

**DEBRECENI EGYETEM TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR  
MIKROBIOLÓGIAI ÉS BIOTECHNOLÓGIAI TANSZÉK**

Az oktató anyagot összeállította  
**SZENTIRMAI ATTILA** EMERITUS egyetemi tanár  
A kézirat elkészültét segítette **NAÁR ZOLTÁN** főiskolai tanár

# **A (MIKRO)BIOLÓGIA ALAPJAI**

Oktatási segédlet

Debrecen 2000



Frissítve: 2012.09.20 — 219 oldal

“The bacteria particularly...are still more important than we. Omnipresent in infinite varieties. Without them to maintain the continuities of the cycles of carbon and nitrogen between plants and animals, all life would eventually cease...”

Hans Zinsser 1935

#### TARTALOMJEGYZÉK:

- (3) — BEVEZETŐ A MIKROVILÁG MEGISMERÉSÉHEZ
- (5) — A MIKROVILÁG FELFEDEZÉSE
- (6) — A MIKROSZKÓPOS VIZSGÁLAT TECHNIKAI ALAPJAI
- (10) — A MIKROORGANIZMUSOK ÉS A FÖLDI ÉLET KIALAKULÁSA
- (12) — A BIOSZFÉRA KIALAKULÁSA
- (14) — MIKROORGANIZMUS ÉS A HUMÁNPOPULÁCIÓ
- (16) — A GÉNTÉCHNOLÓGIA KIFEJLESZTÉSÉNEK FONTOSABB ÁLLOMÁSAI
- (19) — A MIKROORGANIZMUS ÁLTALÁNOS JELLEMZÉSE
- (20) — A MIKROSZERVEZET ÉS A KÖRNYEZET KÖZÖTTI KAPCSOLAT
- (26) — A MIKROSZERVEZET MEGJELENÉSI FORMÁJA: AZ ÉLŐ SEJT
- (27) — SZÉNHYDRÁT-ANYAGCSERE A CITOPLAZMÁBAN
- (34) — NITROGÉN-ANYAGCSERE A CITOPLAZMÁBAN
- (41) — A MIKROSZERVEZET MAGÁLLOMÁNYA
- (49) — FEHÉRJESZINTÉZIS A MIKROORGANIZMUSOKBAN
- (51) — A PROKARIÓTA SEJTBUROK
- (52) — A SEJTHÁRTYA (Citoplazmamembrán)
- (58) — ZSÍRSAVSZINTETÁZ MŰKÖDÉSE az *Escherichia coli* K-12-ben
- (60) — AZ ÉLŐ SEJTET JELLEMZŐ MEMBRÁNPOTENCIÁL FENNTARTÁSA
- (66) — ANYAGFELVÉTEL, A MEMBRÁN TRANSPORTFOLYAMATAI
- (73) — A SEJTFAK FELÉPÍTÉSE
- (82) — A KÜLSŐ MEMBRÁN
- (85) — MOZGÁSSZERV A MIKROVILÁGBAN
- (89) — A MIKROVILÁG FELOSZTÁSA, AZ OSZTÁLYOZÁS MÓDSZEREI
- (92) — ARCHAEOBACTERIA ÓSBAKTÉRIUMOK
- (117) — SEJTFAK NÉLKÜLI ÓSBAKTÉRIUMOK
- (118) — KÖRNYEZETET SZENNYEZŐ ANYAGOK BIOLÓGIAI HASZNOSÍTÁSA
- (120) — KÉN ÉS A MIKROVILÁG. A KÉN BIOGÉKÉMIAI KÖRFOLYAMATA
- (127) — OXIGÉNT NEM IGÉNYLŐ FOTOTRÓF BAKTÉRIUMOK (Rhodobacteria)
- (133) — OXIGÉNT TERMELŐ FOTOSZINTETIZÁLÓ PROKARIÓTÁK
- (140) — GRAM-NEGATÍV AEROB KEMOLITOTRÓFOK
- (146) — MIKROVILÁG ÉS A NITROGÉN
- (154) — BÍMÓZÓ BAKTÉRIUMOK és a NYELES, FÜGGELÉKES SZERVEZETEK
- (155) — CSÚSZVA MOZGÓ, TERMŐTESTET KÉPZŐ BAKTÉRIUMOK
- (158) — GRAM-NEGATÍV AEROB BAKTÉRIUMOK
- (161) — GRAM-NEGATÍV, FAKULTATÍV ANAEROB BAKTÉRIUMOK
- (170) — GRAM-POZITÍV KOKKUSZOK ÉS ASPOROGEN PÁLCÁK
- (177) — ENDOSPÓRÁS PÁLCÁK és KOKKUSZOK
- (182) — Az ACTINOMYCETES csoport
- (185) — MYCOBACTERIALES
- (190) — NOCARDIA alakúak (NOCARDIALES)
- (191) — ACTINOPLANACEAE - ACTINOBACTERIA család
- (195) — STREPTOMYCETACEAE
- (201) — SEJTÉLŐSKÖDŐK, RICKETTSIA-félék
- (202) — VIROPHYTA csoport. Precelluláris képződmények biológiája
- (211) — A NÖVÉNYVILÁGOT FERTŐZŐ VÍRUSOK
- (212) — FERTŐZÉST KÖZVETÍTŐ KÓROKOZÓ FEHÉRJE (Prion)
- (213) — PROTOZOÁK

## BEVEZETŐ A MIKROVILÁG MEGISMERÉSÉHEZ

A címlapon a mikro dőlt betűvel való szedését indokolja, hogy ez a kutatómunka a természet megismerésében érdekelt ember számára a biológia alapjelenségeit tárja fel. A környező világ jelenségeinek megismerésére való törekvés és az okság elvének érvényesülésébe vetett hit a mozgatója annak a tevékenységnek, amely minden időben a vizsgálati eszközök és módszerek fejlettségétől függő szinten végezhető. Az egységes természetszemléletből következően a Pasteur által javasolt görög szóösszetétellel mikrobiológiának nevezzük (μικρος, βίος, λογος) az egységes élővilág méret szerint megkülönböztetett, szabad szemmel nem látható egyedeinek vizsgálatával nyert ismeretek összességét.

A szabad szemmel láthatatlan világ kutatása és felderítése az indirekt kísérletező módszerek fejlődésének, a biokémiai megközelítésből következő új szemlélet kialakulásának, azaz a deduktív gondolkodásmód terjedésének kedvezett. A biológiai szerveződés vizsgálata minden esetben az élő rendszert provokáló mesterséges körülmények között (a lét és a pusztulás határán) folyik. A vírusról és a fágáról a huszadik század első felében kialakult elképzelések is ilyen kutatási módszerekkel szerzett ismereteken alapultak. A vizsgálandó objektum kis mérete miatt a kísérleti tapasztalatok részletes leírása, valamint a megszerzett és kritikailag igazolt ismeretek rendszerbe foglalása, a technikai fejlődés egyre magasabb szintjét igényelte. Csak a mikroszkóp elterjedésével tárult fel az emberiség számára a mikrovilág addig ismeretlen rejtélyes területe és alakult tudománnyá a mikrobiológusok tevékenysége. Azóta is egy-egy új eszköz megszületése, egy-egy új technikai módszer bevezetése jelentős előrelépést hoz a mikrovilág titkainak feltárásában.

A mikroorganizmus (οργανοβίον) tudományos jellemzése sem könnyű feladat, mégpedig azért, mert morfológiailag és fiziológiailag is változatos formában léteznek a *Regnum plantarum* (növényvilág), illetve a *Regnum animale* (állatvilág) különböző taxonómiai egységeibe sorolt mikroszkopikus méretű — állandóságra törekvő, de változékonny — önreprodukcióra, és fejlődésre (evolúcióra) képes lények. Képviselik külső energiaforrást hasznosítva szelekciós nyomás alatt álló önszabályozott rendszerként léteznek. A mikroszervezetek egy-egy sejtjében jelenik meg az élet a maga teljes bonyolultságában. Ezek a szervezetek a biotóppal egységet képező közösséget alkotva, a létért folytatott ádáz küzdelemben, bizonyos fokú dinamikus egyensúlyra törekedve népesítik be a rendelkezésre álló élőhelyet. Egy-egy törzs homogén tenyészetként a mikrobiológiai laboratóriumokban található.

Az élő mivoltuk definiálása sem egyszerű feladat. Mi az élet? Filozófiai kategóriaként az élet az anyag kritikus bonyolultsági fokot meghaladó rendszere. Ezzel a kijelentéssel azonban nem jutunk előbbre. Élőlény vajon a vírus, amely kristályosítható, kristályos formában korlátlan ideig tárolható, végül a gazdaszervezetbe jutva bonyolult, többé-kevésbé ismert módon önmagához hasonló molekula-aggregátumok képződését irányítja?

Nemcsak a vírus, de a baktérium esetében is elgondolkodtató a kérdés: Meddig él a baktérium? Minél kedvezőbb körülmények közé kerül a kérdéses mikroba, annál rövidebb idő alatt osztódik. Húslevesben az *Escherichia coli* tenyészet élő egyedszáma 37 °C-on 20 perc alatt megkétszereződik. Életideje tehát 20 perc? Kedvezőtlen körülmények között viszont a sejtszám kétszereződését több órán keresztül folyó lassú fejlődési ciklus előzi meg. Ez esetben az életidő több óra? Valójában az életműködést fenntartó sejtállomány az osztódás előtt megkétszereződik, majd az eredeti sejtartalom az osztódás után egyenlő megoszlásban a két önálló utódban található. Izotóppal jelzett molekulák felhasználásával több osztódáson keresztül követhetjük a kiindulási sejt anyagainak a jelenlétét az utódban. A kérdés megkerülhető, ha az egyed életideje helyett a baktériumtömeg fennmaradását vizsgáljuk. Tehetjük, mert a baktériumtelep az önmagához hasonló, azonos biológiai állapotban levő egyedek összessége. A kedvező életkörülmények fenntartása esetén a tenyészet elvileg és gyakorlatilag *ad infinitum* osztódó képes marad. Levonható ebből az a következtetés, hogy az élet örök?

Mi legyen az álláspontunk az endospóráképzéskor? Az mégsem állítható, hogy a spóráképződés az egyed halála, hiszen kedvező körülmények közé kerülve a spórából — esetleg csak évek múlva — újra vegetatív lény fejlődik. Eldöntendő, hogy vajon ugyanaz a lény jelent e meg ismét, amelyik endospórára képzett, vagy ez egy másik egyed? — Szerencsére nem ezeket a jobbára filozófiai problémákat kell boncolgatnunk, hanem összefoglalni az általános mikrobiológiai ismereteket, mégpedig mindenki számára jól áttekinthető, könnyen érthető formában. Ez sem könnyű feladat, mert a méret szerint történő elkülönítés egy táborba sorolta az egymástól lényegesen különböző rendszertani csoportokat. — A mikrovilág taxonómiai (ταξινομία sorba rendez) tárgyalása sohasem volt problémamentes, mégpedig azért, mert az emberi gondolkodás sémájába kívánjuk bekényszeríteni a természet sokszínűségét. Akkor is erőszak ez, ha természetes rendszernek nevezzük. — Carolus Linnaeus *Systema naturae* című munkájában (1734) a növényvilág tagjaiként említi a mikroszkopikus élőlényeket. A növényrendszertan művelői a regnum vegetabile tagjaiként Virophyta, Schizomycophyta, Thallophyta stb. törzseként tárgyalják őket. A gombákat klorofilljukat vesztett algáknak tekintik, a magasabb rendűeket a vörös moszatokból, az alacsonyabb rendűeket a Chrysophyta moszatokból származtatják. — A mikológusok a gombákat önálló törzsfajlódási vonalon kialakult, olyan élőlény csoportnak tartják, amelyek a táplálkozási láncban a reducens heterotróf vonalat képviselik.

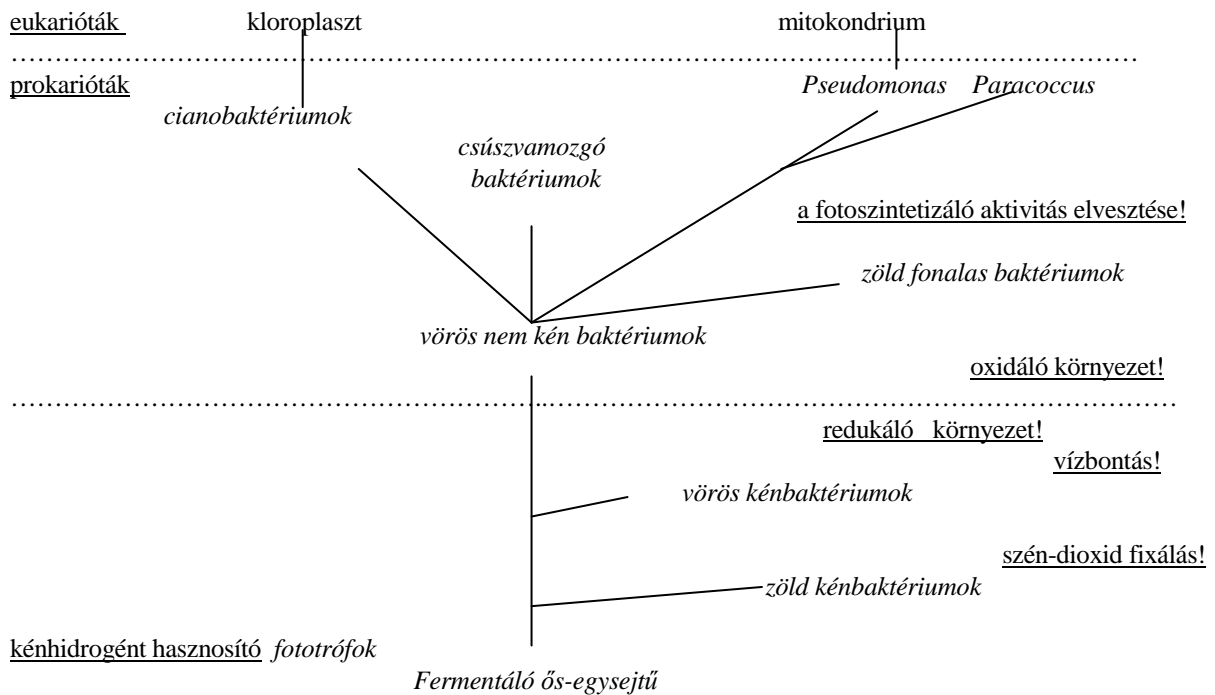
A gombák ostoros alakjaiban a flagellum a maghártyával rendelkező élőlényekre jellemzően, ugyancsak kilenc periferiális és két központi filamentumból tevődik össze.

Haeckel - Darwin természetszemléletét félreértve - a mikrovilág tagjait a növény és állatvilág mellett harmadik regnumként elkülönítve említi. Charles Robert Darwin (1802-82) az *Origin of Species* című munkájában (1859) az állat- és növényvilág valamilyen közös ősenek létezését tételezi fel (*that living organisms do not have to be either plants or animals*), amely — mint írja — szükségképpen valamilyen egyséjtűként létezhetett valamikor. Ernst Haeckel (1834-1919) a Darwin által feltételezett se nem állat, se nem növény átmeneti lényt keresve a mikrovilág vizsgálatával kezdett foglalkozni. Ő volt az, aki az 1866-ban megjelent munkájában a véglényeket a növény- és állatvilágtól teljesen elkülönítve, a protisták birodalmába sorolta. Hamarosan kiderült azonban, hogy ezt a birodalmat tovább kell bontani. Az alacsonyabb rendű prokariotákon kívül a magasabb rendűek közé a gombák, algák és zuzmók soroltattak, az egyséjtű véglények pedig protozoaként kerültek tárgyalásra. Az új regnum bevezetése nem könnyítette a biológusok tevékenységét, mert az új birodalom olyan fajokat is leválasztott a klasszikus állat- és növényvilágból, amelyeknek rendszertani helye vitathatatlan volt. A telepések nagy része például éppen méretükből adódóan nem tekinthető a mikrovilág képviselőinek. Tovább bonyolította a helyzetet a szubcelluláris biológiai egységek felfedezése (vírusok, fágok, plazmidok, virionok, prionok stb.) és rendszertani besorolásuk. Nem véletlen, hogy a protista elnevezés jó félszáz éve kikopott a tudományos nevezéktanból.

Ma a néhány gént tartalmazó nukleinsavtól a több ezer gént tartalmazó metazoáig méret és bonyolultság szempontjából többé-kevésbé folyamatos sorba rendezhetők az egységes élővilág ismert fajai. Ez a sorrend azonban nem jelent fejlődéstani rokonságot. A fág nem létezhetett a baktérium megjelenése előtt, a vírus létehez is szükséges a magasabb rendű szervezet kialakulása. Hipotetikus az ős-eukarióta kialakulása, amely szerint az ős-anaerob szervezetek aerob prokarioták bekebelezésével jutottak a sejtszerveződés magasabb fokára. Bonyolítja a tudományterület művelőinek a helyzetét, hogy sok esetben a tárgyalandó szervezetek olyan szoros asszociátumban élnek egymással, prokarióta illetve eukarióta szervezetekkel, hogy önálló egyedként nem vizsgálhatók.

A hagyomány szerint a mikrobiológia keretében tárgyalják a magasabb rendű szervezetek védekezési mechanizmusával foglalkozó tudományt, az immunológiát is, mivel az antibiotikumok és a kemoterápiás szerek felfedezése előtt az immunizálás volt az egyetlen hatásos módszer a fertőző csírák ellen (Edward Jenner 1798-ban vaccínál, Pasteur 1876-ban demonstrálja a lépfene leküzdhetőségét). A vírusos fertőzések elleni küzdelemben sajnos ma sem rendelkezünk az immunológiai módszernél hatásosabb fegyverrel. Sikerrel alkalmazzák az immunológiai eljárásokat a mikroszervezet anatómiai megismeréséhez, de a prokarióta és az eukarióta mikroszervezetek rendszertani helyének meghatározásakor is előnyösen használhatók az immunológiai vizsgálati eljárások.

### Az élővilág fejlődésének vázlata



## A MIKROVILÁG FELFEDEZÉSE

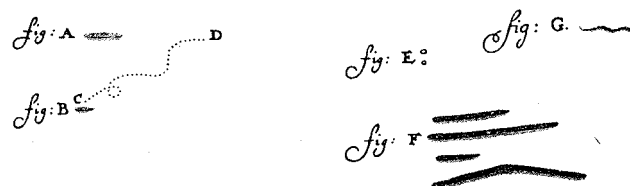
A gondolkodó elme a mikrovilág léteére a környezetre kifejtett hatásából következethetett. — Marcus Terentius Varro (Kr.E. 116-30) *Disciplinarum libri novem* című enciklopedikus munkájában azt írja, hogy a szájról és orrnyíláson keresztül különböző olyan láthatatlan állatkák jutnak az emberbe, amelyek elszaporodva betegséget okozhatnak. —



Anton van Leeuwenhoek (1632-1723)

*Dear Sir,*

*I took this stuff out of the hollows in the roots, and mixed it with clean rainwater, and set it before the magnifying-glass so as to see if there were as many living creatures in it as I had aforesaid discovered in such material: and I must confess that the whole stuff seemed to me to be alive. But notwithstanding the number of these animalcules was so extraordinarily great (though they were so little withal, that 't would take a thousand million of some of 'em to make up the bulk of a coarse sand-grain, and though several thousands were aswimming in a quantity of water that was no bigger than a coarse sand-grain is), yet their number appeared even greater than it really was: because the animalcules, with their strong swimming through the water, put many little particles which had no life in them into a like motion, so that many people might well have taken these particles for living creatures too.*



Leveléhez a látott élőlények leírásán kívül (hosszú és rövid pálcák, kokkuszok, spirillumok) azok rajzát is mellékeli, sőt egyes példányok mozgékonyaságáról is említést tesz. Ezt megelőzőleg is levelezésben állt a Londonban működő társasággal, beszámolva a növényeken végzett mikromorfológiai észleléseiről. (Megfigyeléseit saját készítésű, 300-szoros nagyítású egylencsés mikroszkópjával végezte.)

Majd udvariasan kérdezi a bölcsek tanácsát: *I have had several gentlewomen in my house, who were keen on seeing the little eels in vinegar, but some of them were so disgusted at the spectacle, that they vowed they'd never use vinegar again. But what if one should tell such people in the future that there are more animals living in the scum on the teeth in a man's mouth, than there are men in a whole kingdom?*

Ezt megelőzőleg Athanasius Kircher (1602-1680) saját mikroszkópos vizsgálatai alapján a mikrobákat vélte a járványos megbetegedések okozóinak. A kortárs szakmai közvélemény azonban ezt a megállapítását nem vette tudomásul. — Száz év múlva Carolus Linnaeus (1707-1778, Linné Károly) svéd orvos 1767-ben megjelent művében hat fajba csoportosítva a Chaos osztályhoz sorolja az akkor ismert mikrobákat. — Christian Gottfried Ehrenberg (1795-1876) berlini egyetemi tanár az 1836-ban írt *Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen* című alapvető munkája és az 1838-ban kiadott Atlas már a mikrovilág 600 típusát ábrázolja.

Az élet ilyen egyszerű formáinak a felfedezése ezeknek a lényeknek az eredetét is megválaszolando kérdéssé emelte. A növények és az állatok spontán képződése fel sem merült a gondolkodókban. A mikrovilág abiogenezise, spontán képződése azonban számos hirdetőre talált. Mások, közöttük Leeuwenhoek is úgy vélték, hogy a levegőbe jelenlevő láthatatlan misztifikált csírákból sarjad az élő mikrovilág. Francesco Redi fiziológus 1665-ben megállapítja, hogy a húspan megjelenő lárvák a légy petéiből képződnek. Finom gézzel elválasztva a nyers húst a környezettől, a lárvák nem jelennek meg. Lazzaro Spallanzani (1729-1799) kísérletei hiába bizonyították az ősznemződés tarthatatlanságát, a változás csak a 19-ik század második felében következett be. Friedrich Kützing 1837-ben megállapítja, hogy az ecetsav élő szervezet hatására képződik. Már működött az első sörgyár Európában Csehországban (indult 1842-ben), amikor még a mikrobák szerepét olyan tekintélyek, mint báró Jöns Jacob Berzelius (1779-1848), a Svéd Tudományos Akadémia elnöke, báró Justus Liebig (1803-1873) giesseni egyetemi tanár és Friedrich Wöhler (1800-1882) göttingeni egyetemi tanár egyértelműen tagadták. Sőt Cagniard de Latour és Theodor Schwann (1810-1882) 1837-ban közölt megfigyeléseit — amely szerint fermentáció közben mikroszkóppal látható gömbalakú képződmények (élesztők) szaporodnak fel — karikatúrával ékesített pamfletben gúnyolták. A gyakorlati szakembereket azonban nem lehetett elhalgattatni. Végül Louis Pasteur (1822. december 27.- 1895. szeptember 28.) tekintélye és szakmai sikerei, valamint szisztematikus kísérletező stílusa tudta csak elfogadtatni — húsz év múlva — a szakmai közvéleménnyel a fermentációs folyamatok mikrobiális jellegét. A Strasbourgban kémiát tanító Pasteur a borkösav forogatóképességét vizsgálva felfedezi a molekuláris aszimmetria jelenségét. Megállapítja, hogy a mikroszervezet a környezet kémiai változását okozza. 1857-ben az Ecole normale superior igazgatójaként írt *Memoire sur la fermentation lactique* című munkájában sikerült bizonyítani az alkoholos és tejsavas erjedésben az élesztők és a tejsavbaktériumok szerepét. Az aerob és anaerob létforma felismerése is Pasteur nevéhez fűződik. Megállapítja, hogy a vajsavas erjedés megszűnik a légköri oxigén hatására (Pasteur effektus)

A nagy ellenfél, Justus Liebig számára ezek a bizonyítékok sem voltak kielégítőek. Kétségbe vonta Pasteur állítását, aki 1864-ben a pasztörözés (56 °C/30 perc) technológiájának kidolgozásával az ősznemződés elméletétől is megtisztította a természettudományt. (Megjegyzendő, hogy a pasztörözés technikáját a fertőződés megakadályozására először 1861-ben Preisz Móricz magyar biológus használta.) Az ősznemződés elmélete évtizedekig makacsul megtapadt a fejekben annak ellenére, hogy a sterilitás fogalmával már Lazarro Spallanzani (1729-1799) olasz természetbúvár kísérletei is megismertették a kortársakat. Schröder és van Dusch 1854-ben a vatta dugós használatával akadályozzák a steril táptalaj fertőződését, 1860-ban pedig Sir Joseph Lister (1827-1912) Semmelweis munkáját olvasva az aseptikus sebészeti gyakorlat kialakítását követeli

## A MIKROSKÓPOS VIZSGÁLAT TECHNIKAI ALAPJAI

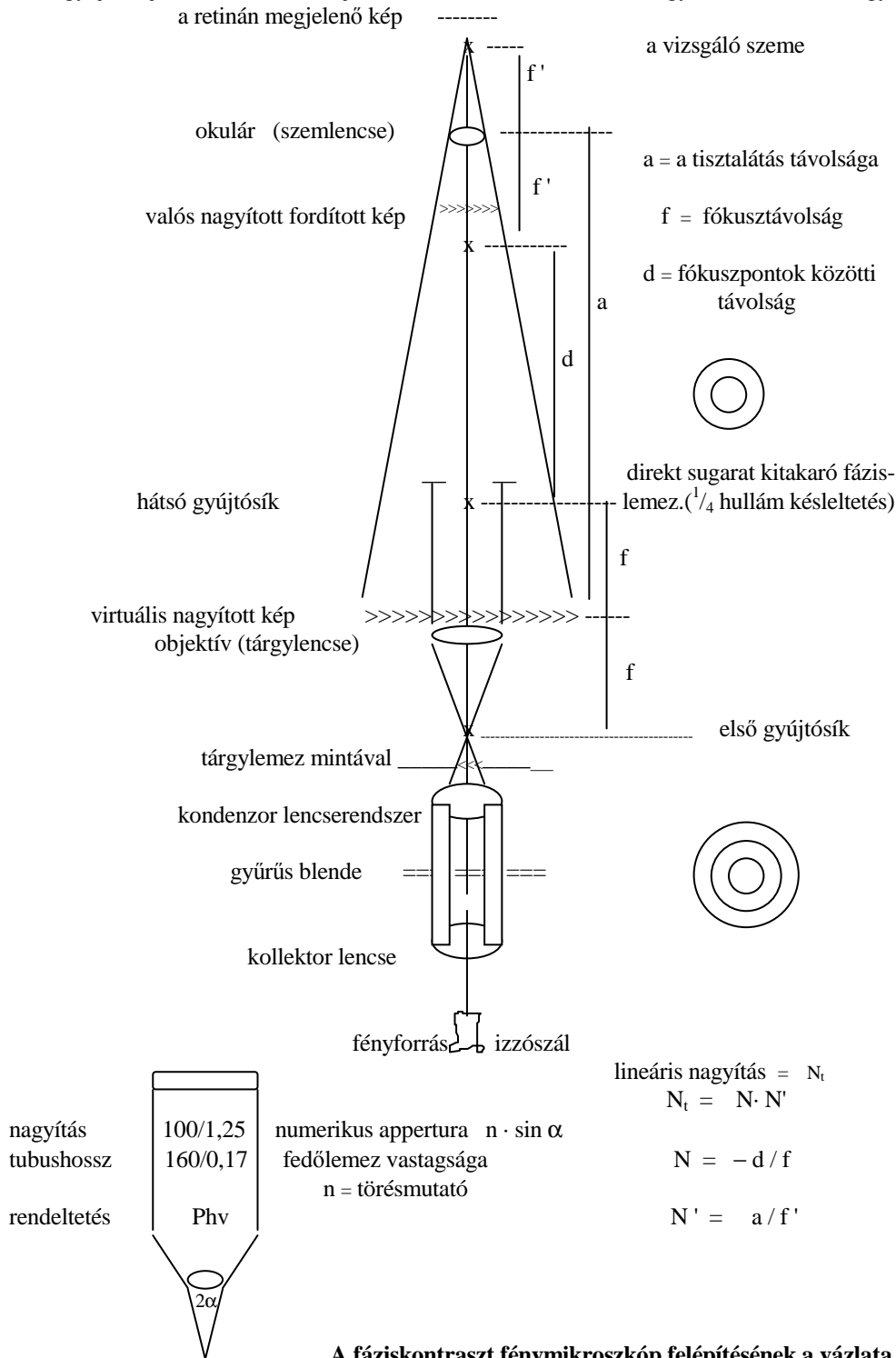
Anton van Leeuwenhoek vizsgálódásához valójában egy fémlemezből rögzített gyújtólencsét használt. A lencsét tartó lemez a zavaró fényt kitakarta. A vizsgálandó tárgy távolságát a lencsétől csavarmenettel szabályozta. A vizsgálandó mintát végül szemlencséjének alkalmazkodóképességét hasznosítva szemlélte..

A fejlődést az összetett mikroszkóp (σκοπεῖον) elterjedése és széleskörű használata hozta. Johannes Kepler (1571-1630) 1611-ben leírja ugyan az összetett mikroszkóp elvi felépítését, használható formában való kivitelezése azonban nem volt könnyű feladat. (Egyes adatok szerint Zacharias Jansoon már 1590-ben készített ilyen eszközt.) A technikai felszerelések gyors ütemű tökéletesedése jótékonyan hatott a biológiai tudományok fejlődésére. A XIX. század elején már elfogadható minőségben sikerült ilyen eszközöket előállítani.

A kisméretű tárgyak szemmel történő vizsgálatára használható lencserendszer, a mikroszkóp egy olyan cső, amelynek egyik végén a tárgylencse (objektív), az ellenkező végén pedig a szemlencse (okulár), található. Ha a vizsgálandó anyagot a tárgylencse gyújtópontján kívülről helyezzük el, akkor a tárgy egyes pontjairól kiinduló és az objektíven átmenő sugárkép a tárgy valós, fordított, nagyított képét hozza létre. A szemlencsét tehát úgy kell elhelyezni, hogy az objektív által létrehozott valós kép a szemlencse gyújtópontján belül helyezkedjen el. Szemünkkel ez esetben a valós kép nagyított virtuális képét látjuk. Éles képet akkor kapunk, ha a virtuális kép a tisztánlátás legrövidebb távolságában keletkezik. Ennek megfelelően kell süllyeszteni vagy emelni a finommechanikailag tökéletesen kivitelezett mikroszkóppálványra erősített lencserendszert tartalmazó csövet. A cső átmérője természetesen nem lehet kisebb, mint az objektív által alkotott valós kép mérete. (A virtuális kép létrejötte ezt nem igényli.) — Tudományos színvonalon Ernst Abbe (1840-1905) egyetemi tanár (a Jenai Zeiss- művek későbbi igazgatója) foglalkozott a technikailag tökéletes mikroszkóp gyártásának az elméleti megalapozásával. Az 1876-ban befejezett kutatásait követően, tíz év múlva jelent csak meg a piacon az a lencserendszer, amely az áteső fényben végzendő vizsgálatok minden optikai igényét kielégítette. (E lencserendszer üvegyagának a megválasztásával és a lencsék csiszolásával az úgynevezett szférikus aberrációt, valamint a különböző hullámhosszú fénysugarak képalkotásának eltéréséből adódó kromatikus aberrációt minimálisra tudta csökkenteni.)

A mikroszkópi kép keletkezésének előfeltétele, hogy a tárgy minden pontjáról kúpalakú sugárnyalábok induljanak. A sugárnyaláb által bezárt tér a látómező. A kellő intenzitású sugárnyalábok kialakulásáról egy külön berendezés, a kondenzor és a megvilágító rendszer gondoskodik. A Köhler-elv (a rendszer optimalizálására szolgáló módszer kidolgozójáról kapta nevét) szerint a fényforrás (célszerűen halogénlámpa) izzó szálát a kollektor lencse a fényforrás rekeszén keresztül a kondenzor-rekesz síkjában képezi le. A fényforrás rekeszének a képét a kondenzor

lencse a tárgy síkjában képezi le. (Beállításkor egy homályos üveglemezt kell a fényútba helyezni.) Ezzel a beállítással elérhető, hogy a fényforrásból kiinduló sugarak a tárgy pontjairól önálló sugárnyalábként indulva az objektív hátsó gyújtósíkjában találkozzanak, majd továbbhaladva létrehozzák a tárgy fordított állású, nagyított, valós képét.



### A fáziskontraszt fénymikroszkóp felépítésének a vázlata

A mikroszkóp teljes nagyítása az objektív és az okulár nagyításának a szorzatával egyenlő. Az okulárok és az objektívek cserélhetők, így tetszésünk szerint, a rendszer felbontóképessége által meghatározott — legjobb esetben 2000-szeres — nagyítást állíthatunk be. A felbontóképesség az a legkisebb távolság, amelynek a végpontjai a mikroszkópi képen még külön pontként észlelhető.

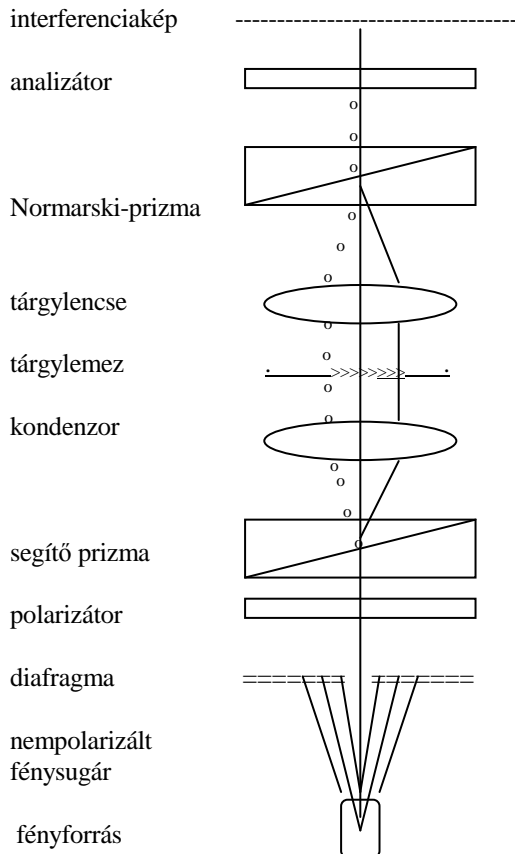
Abbe egyenlete szerint a felbontóképesség

$$\delta = \frac{0,31 \cdot \lambda}{n \cdot \sin \alpha}$$

látható fényben ( $\lambda = 450 \text{ nm}$ )

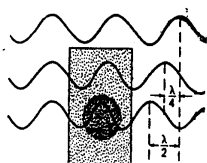
Kielégítő leképezést csak az esetben kaphatunk, ha a tárgy mérete jóval nagyobb, mint a fény hullámhossza. Ebből következik, hogy a felbontóképesség ( $n$ ) függ a megvilágító fény hullámhosszától ( $\lambda$ ), a közeg törésmutatójától ( $n$ ),

valamint a frontlencse nyílásszögétől ( $\alpha$ ). A felbontóképesség javítása céljából az objektív és a tárgy, valamint a kondenzor lencse és a tárgylemez közé az üveggel azonos törésmutatójú immerziós olajat célszerű cseppenteni. Ez az olaj a fénytörés okozta veszteséget is csökkenti. — Lebedeff 1930-ban a natív mikroszkópi készítmények vizsgálatára előnyösen használható interferenciás mikroszkópot készített. Eljárásával a tárgysíkon jelentkező, a fény hullámhosszánál lényegesen kisebb ( $\lambda/150$ ) egyenletlenségek is felismerhetők. A technikát 1952-ben Normarski fejlesztette tovább, kidolgozva a differenciál interferencia kontraszt mikroszkopizálás technikáját.



*Gloeocapsa* Normarski interferencia mikroszkópi képe

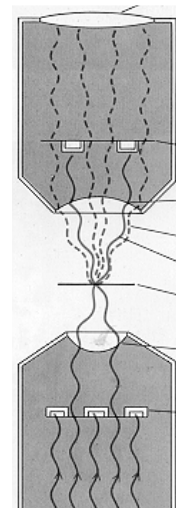
A mikrobiológiai kutatás szempontjából kiemelkedő jelentőségű a Zernicke által kidolgozott fáziskontraszt-mikroszkóp megjelenése 1932-ben. Ez a technika lehetővé teszi az élő mikroba finomszerkezetének a vizsgálatát. A fáziskontraszt eljárás esetén az objektív hátsó gyűjtősíkjában helyezkedik el a fáziskontraszt lemez, amelyen a körgyűrűs kiképzésű fémréteg van hivatva kitaranni a kondenzor alatt elhelyezett gyűrűsblende által átengedett direkt fénysugarakat. (A gyűrűsblende és a direkt fényt kitarakó fémréteg pontos egybeeséséről a segédmikroszkópot használva győződhetünk meg.) A részletekben gazdag, nagyított valós kép a tárgylemezen levő minta különböző sűrűségű sejtalkotórészek szóródó fénysugarakból áll össze. Ennek a képnek az észlelését az áteső direkt fény nem tenné lehetővé. A fáziskontrasztlemezben alakul át a gyűrűs blendéből származó, majd a tárgy eltérő törésmutatójú pontjain áthaladó fénysugár fáziskésése amplitúdókülönbséggé, amit az emberi szem (videokamera) már képes értékelni. Ezt a valós mikroszkópi képet azután a szemlencse a hagyományos módon virtuális nagyított kép formájában tárja a finom morfológiai részleteket vizsgáló mikrobiológus elé. A tárgylemezen levő mintán áthaladó fénysugarak fáziskésése az objektív hátsó gyűjtősíkjában elhelyezett fázislemez hatására alakul részlet gazdag képpé. A fáziskontraszt kép kialakulása szempontjából a fedőlemez minősége és vastagsága (0,17 mm) meghatározó jelentőségű!



**változatlan**  
 **$\lambda/4$  késés**  
 **$\lambda/2$  késés**

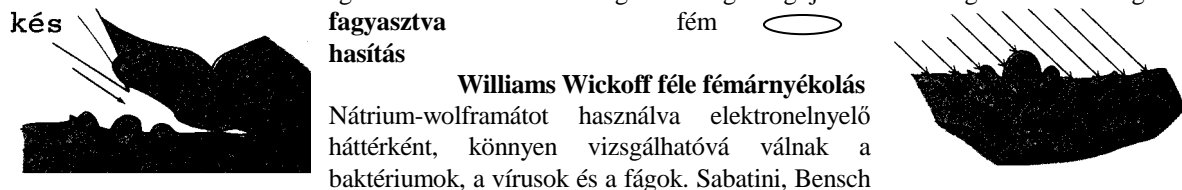
Az észlelését az áteső direkt fény nem tenné lehetővé. A fáziskontrasztlemezben alakul át a gyűrűs blendéből származó, majd a tárgy eltérő törésmutatójú pontjain áthaladó fénysugár fáziskésése amplitúdókülönbséggé, amit az emberi szem (videokamera) már képes értékelni. Ezt a valós mikroszkópi képet azután a szemlencse a hagyományos módon virtuális nagyított kép formájában tárja a finom morfológiai részleteket vizsgáló mikrobiológus elé. A tárgylemezen levő mintán áthaladó fénysugarak fáziskésése az objektív hátsó gyűjtősíkjában elhelyezett fázislemez hatására alakul részlet gazdag képpé. A fáziskontraszt kép kialakulása szempontjából a fedőlemez minősége és vastagsága (0,17 mm) meghatározó jelentőségű!

A mikroorganizmus anatómiai felépítésének vizsgálata szempontjából az utóbbi évtizedben a fluoreszcenciás mikroszkóp nélkülözhetetlen eszközzé vált. Az ultrabolya fényvel megvilágított tárgy ugyanis kémiai felépítésére jellemzően lumineszkál. Specifikusan kötődő fluorokrómmokkal a sejt biokémiai eltérő részecskéi is láthatóvá tehetőek. A technikai lehetőséget felismerve 1941-ben Coons bevezette az antitesthez kapcsolt fluoreszkáló festék használatát. — A mikrovilág megismerését segítő technika fejlesztésében döntő szerepük volt a fizikusoknak. Az elektronmikroszkóp megalkotásával jelentős mértékben hozzájárultak a modern molekulárisbiológusokhoz.



fényforrás

giai szemléletünk kialakításához. Thomson 1897-ben foglalja össze az elektron tulajdonságairól addig szerzett ismereteket. Alig telik el egy negyedszázad, amikor de Broglie az elektron hullámtermészetét bizonyító eredményekről számol be. Két évvel később, 1926-ban Busch mágneses lencsékkel kidolgozza az elektron optikát, ennek alapján 1931-ben Ruska megépíti az első elektronmikroszkópot, és alig nyolc esztendő múlva, 1939-ben a Siemens cég forgalomba hozza, mint ipari terméket.— A TEM (transzmissziós elektronmikroszkóp) bonyolult, komplex technikai berendezés. Felépítésében bizonyos mértékig hasonlít a fénymikroszkóphoz, azonban a fénysugarat elektronsugár, az üveglencsét pedig mágneses lencsék helyettesítik. A készülék fontos tartozéka a sugárforrás, amit elektronágyúnak neveznek. Az (izzó katód) elektronforrásból származó elektronokat 40-200 kV feszültséggel gyorsítják, majd alkalmas elektromágneses kondenzor lencsékkel párhuzamos elektronsugárrá rendezik. Ez a sugár a kondenzor aperturán keresztül jutva halad át a vizsgálandó mintán, az elektron számára különböző mértékben átjárható igen vékony metszeten (10-100 nm). Az elektronsugár fizikai természetéből következően az elektronmikroszkóp belsejében vákuumot ( $1,3 \times 10^{-3}$  Pa) kell fenntartani. Ez a körülmény, valamint az elektronsugár roncsoló hatása élő objektumok vizsgálatát nem teszi lehetővé. A kémiai vagy fizikailag eltérő részletek észlelhetőségét a minta megfelelő előkészítésével lehet fokozni. A minták vizsgálatához való előkészítése bonyolult, hosszú művelet. Ebből következik, hogy a szubmikroszkópos méretű világ morfológiai vizsgálatok, a látottak kiértékelésekor bizonyos műtermékek képződésének lehetőségére is gondolni kell. A tárgyról jövő elektron sugárnyalábot ezután az objektívnek nevezett elektromágneses lencserendszer téríti el, majd a szelektor aperturán áthaladva az úgynevezett vetítő mágneses lencserendszer közvetítésével a kép megjelenik a fluoreszkáló ernyőn, illetve az ott elhelyezett fényérzékeny lemezen. A fényérzékeny lemezen megjelenő kép azután fototechnikailag még tovább nagyítható. — Az elektronmikroszkóp felbontóképessége - mivel az elektronsugár hullámhossza 0,005 nm - ezerszer jobb a fénymikroszkópénál (0,2 nm), még bizonyos nagyobb molekulák is láthatóvá tehetőek. A képek értékelésekor figyelembe kell venni az elektronmikroszkópi kép nagy mélységélességét (2  $\mu$ m), amiből következik, hogy a kép egymás feletti rétegekből áll össze. — Kezdetben a biológiai objektumok vizsgálatát nehezítette az, hogy nem tudtak elég vékony metszeteket készíteni. Az első biológiai tárgyú képek ezért a vizsgálandó tárgyról készült replika (fólia) segítségével készültek. 1944-ben dolgozta ki Williams és Wickoff azt a fémárnyékolási technikát, amely a lenyomat finom részleteinek az észlelését is lehetővé tette. A vizsgálandó felületre vákuumbúra alatt, mégpedig egyetlen kitértetett irányból érkező fématomok rakódnak le. Ebből következően a fólia kiemelkedései mögött kialakuló árnyékhatás a mikroszkópos képet gazdagítja. 1945-ben Porter, Claude és Fullam bevezetik az ozmium-tetroxidos kezelést. Az ozmium ugyanis jól kötődik mindazon sejtalkotókhoz, amelyben nagyobb mennyiségű telítetlen zsírsav, fehérje vagy foszfolipid van. Ennek ismeretében a sejtek morfológiai vizsgálata molekuláris biológiai szempontból, de élettani vonatkozásban is új eredményeket hozott. Később más nehézfém-sók (uranil-acetát, ezüst-nitrát) is felhasználásra kerültek. A pH függvényében a nehézfém atomok különböző kémiai csoportokhoz kötődnek. Peosa és Baker 1948-ban már 0,1  $\mu$ m vékonyságú metszetet készített. Az első gyémánt- és üvegekessel működő ultramikrotomot 1953-ban Porter és Blum készítik. 1956-ban Glauert bevezeti az aradit gyantába ágyazás technológiáját, amely a baktériumok ultra vékony metszeteinek a vizsgálatát teszi lehetővé. Brenner és Horne 1959-ben a negatív festési technika kidolgozásával gazdagítja az alaki-vizsgálatok lehetőségeit.



és Barnett 1963-ban bevezetik a glutáraldehides fixálást, amit ozmium-tetroxidos kezeléssel kombinálnak. A specifikus ellenanyagok és ezekhez köthető elektronelnyelő vegyületek (pl. ferritin) használata a sejt részletesebb elektronmikroszkópos anatómiai vizsgálatát tette lehetővé. A fénymikroszkóp és az elektronmikroszkóp kombinált alkalmazásával ezek a módszerek a bioszintetikus folyamatok helyének a kijelölésére is módot adtak.— A Steere, Moore és Mühlehalter által kidolgozott (freeze-fracture) fagyasztva törő technika, amely 1957-ben került bevezetésre, új utat jelentett. Ezzel a módszerrel a mélyfagyasztott (-150 °C) készítményben a mechanikus hatásra felnyíló baktériumsejtfal rétegei is tanulmányozhatóvá válnak, de a membrán szerkezetéről, a sejt szervecské morfológiájáról is egyre több ismeret gyűjthető. Különösen Heuser és Preese által 1979-ben bevezetett gyorsfagyasztási módszer és a nagy felbontóképességű deepetching technika hozott szép eredményeket. A morfológiai vizsgálatok szempontjából jelentős lépés volt a SEM (scanning /letapogató/ elektronmikroszkóp) használatba vétele. A prototípust Knoll és Van Ardenne már 1935-ben elkészítette, de használható formában a Cambridge Instruments gyártmányaként csak 1965-ben jelent meg a kutatólaboratóriumokban. A vizsgálandó szárított minta felületét igen vékony fémréteggel (vákuumban képződő platinagőzzel) teszik alkalmassá az elektronsugár szórására. A visszavert elektronsugarat megfelelő detektor fogja fel. A jelből végül is elektronikusan plasztikus, csekély felbontóképességű (10 nm) háromdimenziós kép állítható elő.

## A MIKROORGANIZMUSOK ÉS A FÖLDI ÉLET KIALAKULÁSA

A mikroorganizmusok között találjuk az élet ősi formáinak ma is létező emlékeit. A magasabb rendű élet kialakulása szempontjából szerepük és érdemeik vitathatatlanok. Nemcsak a magasabb rendű életlehetőségek megteremtőiként emlegetjük őket, de tevékenységük az élet fenntartásában, a környezet szüntelen megújításában is pótolhatatlan. Az élővilágban általánosan elterjedt anyagcsererendszerek optimális szabályozottsága a külső hatásokkal szembeni toleranciát alapozta. Az állandóságra törekvés és a változékonyság ellentétét ötvözve, a mikrovilág az evolúció, az elért fejlődés eredményeit rögzíti az örökítő anyagban. A később megjelenő magasabb rendű lényeknek, az eukariotáknak és metazoáknak volt miből válogatni. A prokarioták szaporasága és rövid egyedi életük, valamint a haploid örökítőanyag-készletük a létért folytatott küzdelemben a génállomány folyamatos, viszonylag gyors tökéletesedésére ad lehetőséget ma is.

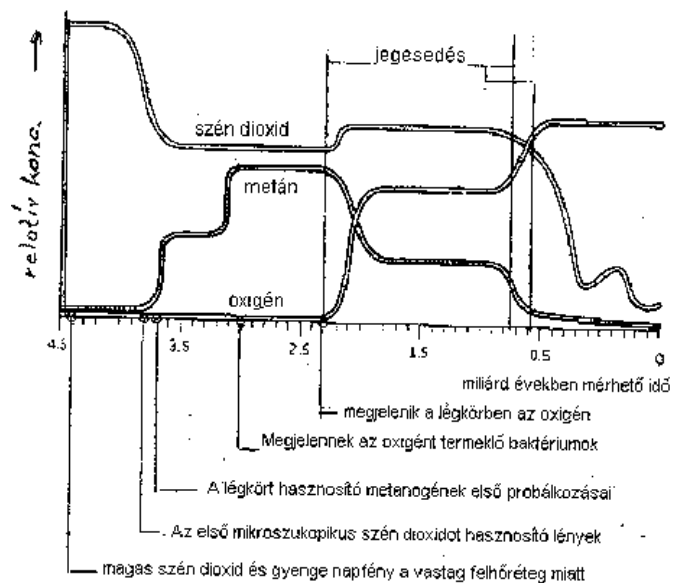
### A légköri nitrogén megkötése

A légkör nitrogéntartalmának hasznosíthatóvá tételét a mikrobák végzik évmilliárdok óta. Csak az utóbbi évtizedek profitorientált mezőgazdasága számára dolgozó nagyipari nitrogénkötés változtatott a helyzeten. A műtrágyagyárak által kémiai módon kötött nitrogén mennyisége már meghaladja a földfelszín ökoszisztémáinak nitrogénkötő képességét. Ebből következik, hogy az egyensúly helyreállítása érdekében célszerűen olyan biotechnológiai módszer kifejlesztésével kellene foglalkozni, amely a környezetünk elnitratósodását visszafordítja.

### Szénhidrogén-képződés

Anaerob körülmények között a mineralizáció csökkent mértékű. A szén-dioxid ez esetben elektronakceptoroként szerepelhet. Ilyen körülmények között a szénképződés és a kőolaj és földgáz felhalmozódása kerül előtérbe. A redukált kofaktorok (NADH, NADPH) regenerálásának legelőnyösebb útja ugyanis a zsírsavképzés. A zsírsav azután dekarboxilezve alifás szénhidrogénekké alakulhat.

### Az aerob élettér kialakítása



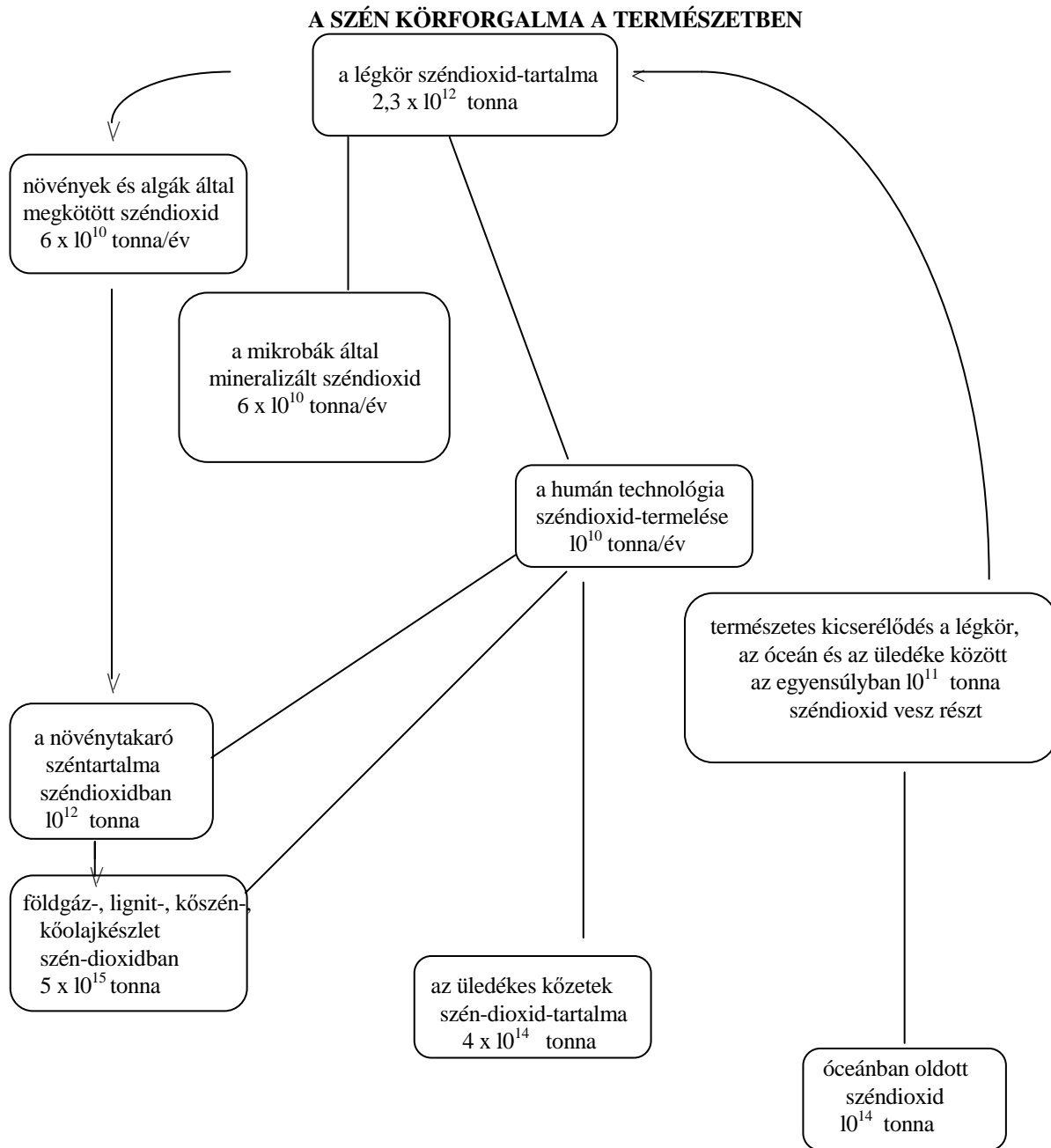
A földfelszín borító vízmennyiség évmilliók óta viszonylag elviselhető környezetet, kiegyensúlyozott életkörülményeket biztosít az élőlények számára. A mikrovilág arra alkalmas fajai a felszíntől a több ezer méteres mélységig benépesítik ezt az életteret. Évmilliárdok teltek el, amíg a földtörténet őskorában az oxigénmentes légkört a maihoz hasonló összetételűvé alakította a földfelszín benépesítő mikrobátömeg. Kezdetben a fényenergiát hasznosítva vizet bontó ős-prokariota, a szigorúan anaerob szervezetek számára mérgező anyagcsereterméként megjelenő oxigént a környezetébe választotta ki. Több száz millió éven keresztül a képződő oxigén nem dúsult fel a légkörben, csak miután az őstenger ferroszulfid-pufferkapacitása kimerült. A folyamatosan képződő ferroszulfid ugyanis hidratált ferrioxidok alakjában kicsapódott és a szilikátokkal együtt a tenger fenekén vastag üledékként rozsdaszínű réteget

alkotva felhalmozódott fel. Csak a ferroszulfidok eloxidálása után jelenhetett meg az oxigén a légkörben. A pufferkapacitást kimerítő több száz millió év elegendő volt az aerob anyagcseréhez alkalmazkodni képes ős-szervezetek kiválogatódására. A fotokémiai úton termelt mikrobiális eredetű oxigén ma is döntő jelentőségű a földfelszíni oxigénszint alakulásában.

### A szén körforgalma és a napenergia hasznosítása

A Föld szénkészletének legnagyobb része ma a földkéreg üledékes kőzeteiben található. Ez a szénkészlet a mikrobák számára gyakorlatilag hozzáférhetetlen. Ugyancsak csekély mértékben kerül mikrobiális hasznosításra az évmilliók alatt felhalmozódott szénhidrogén (kőszén, lignit, földgáz és kőolaj). A szén biológiai körforgalmában ma a légkörben és a vizekben, valamint az élővilágban átmenetileg megkötött szén vesz részt. A fotoszintézis, a szén-dioxid megkötése és a mikrobák mineralizációs aktivitása (a szerves anyag szervetlen formába alakítása) gyakorlatilag kiegyenlítő hatású. Évenként a légkör széntartalékának 5 %-a vesz részt ebben a körfolyamatban. A növények és az algák valamint a fototróf prokarioták által előállított poliszacharidok széntartalma jobbra a mikrobák tevékenységének eredményeként kerül vissza légkörünkbe. A napból származó energia hasznosítása, átalakítása évmilliárdok óta a mikroorganizmusok, illetve a növényvilág feladata. Ezek a szervezetek a légkör széntartalmának hasznosításával kezdettől fogva részt vesznek az évenként megújuló szerves anyag előállításában. A napenergia hasznosításában a humán populáció eddig nem tudott számottevő eredményre jutni. Ma is az évmilliárdok alatt felhalmozott és szénhidrogénkészletekben eddig megőrzött energiát pazarolja, illetve éli fel. Az ipari technológiák

széndioxid-termelése fokozódó mértékben zavarja a kialakult egyensúlyt, noha a légkör és a hidroszféra közötti spontán kicserélődés lehetősége, az óceánok pufferhatása és az üledékképződés eddig enyhítette a környezetbarátnak nem tekinthető emberi tevékenység káros következményeit.

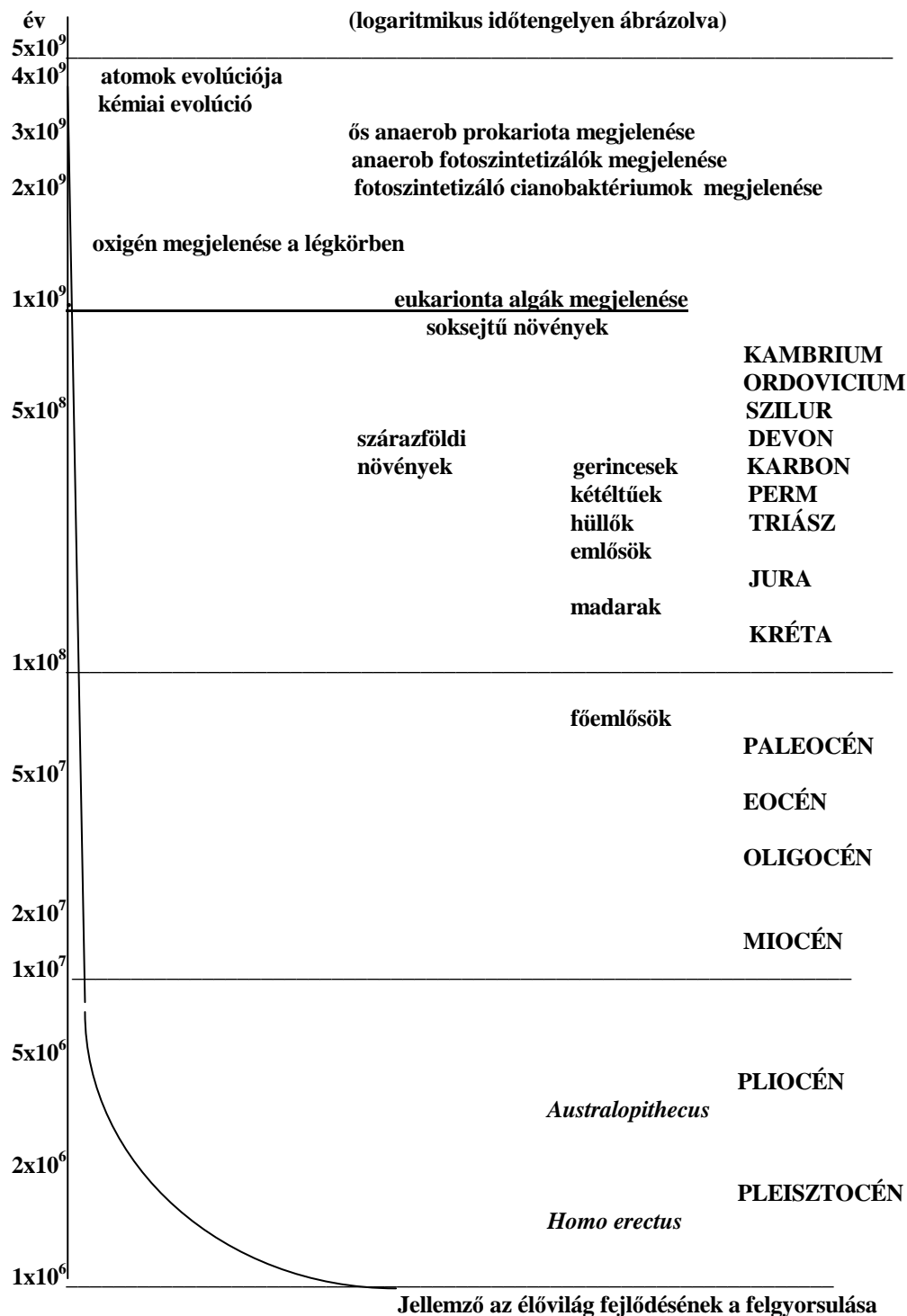


### Talajképződés

A múlt század végén Sergius Winogradsky (1856-1953) és Martinus Willem Beijerinck (1851-1931) által elindított talajmikrobiológiai kutatások eredményei egyértelműen bizonyítják a mikrobák jelentős szerepét a humuszképződésben, a termőtalaj kialakulásában. Nélkülük aligha jelent volna meg a növényvilág. Sőt a mai intenzív mezőgazdasági kultúra is számít a mikrovilág biokémiai aktivitására. A növények gyökerei körül, a rizoszférában olyan mikrobaközösségek élnek, amelyek egymást segítve előnyösen hatnak a tápanyagfelvételre, a gazdanövény fejlődésére. Ezt a modern mezőgazdaság is kihasználja, amikor a vetőmagot vetés előtt a megfelelő mikrobatenyézzel kezeli.

# A BIOSZFÉRA KIALAKULÁSA

(logaritmikus időtengelyen ábrázolva)

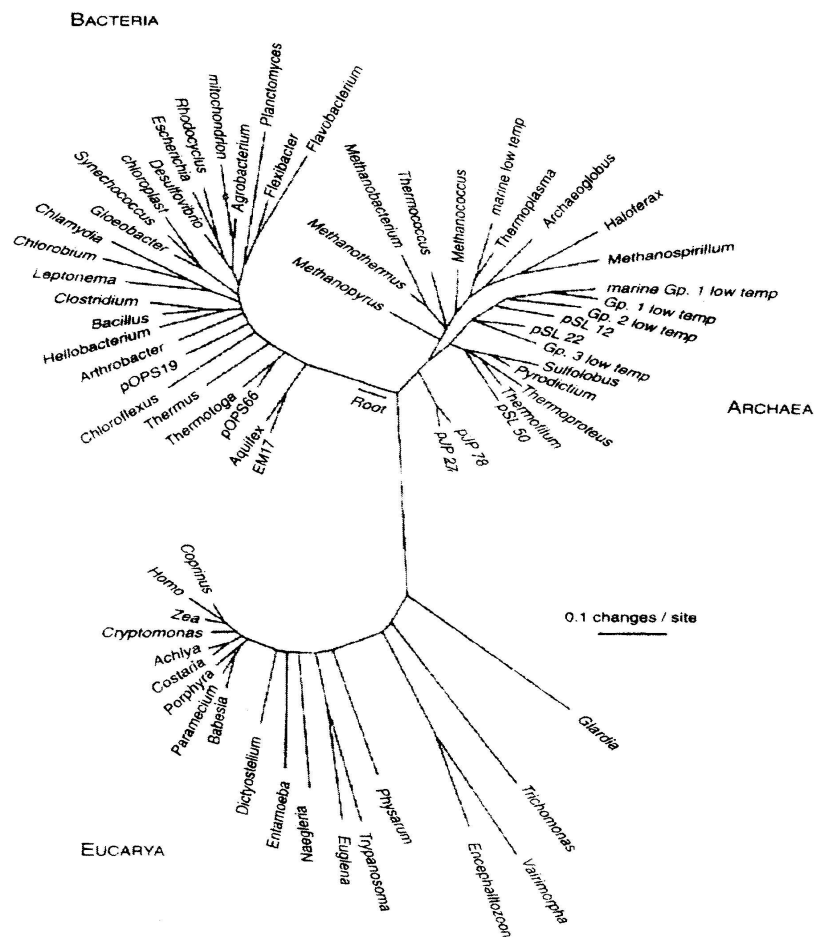


## A környezet megőrzése és az élővilág fennmaradása

A földtörténet évmilliárdjain keresztül az anyag és az energia szüntelen körforgásában a legeredményesebb munkát — a biocönózis aktív tagjaiként — a biotóppal egységet képező önszabályozott rendszerek, a mikroszervezetek végezték. A *vis vitalis*, az életerő hajtotta élni akarás minden akadályt legyőző kényyszeremindenkor megtalálja a lehető leggazdaságosabb túlélést szolgáló utat, ha ebbéli igyekezetét nem akadályozzuk meg szándékosan vagy tudatlanságból. A ma célul magunk elé tűzött hulladékmentes termelés a természetben már megvalósult. Minden természetes anyag, természeti képződmény, valamely mikroba számára életteret jelent. A természetes anyagok felhasználásában, az élettérért vívott küzdelem szelekciós nyomása alatt az a szervezet győz, amelyik a leggazdaságosabban hajtja végre a feladatot.

A Föld korát a különböző szakemberek 4.55 és 4.57 milliárd évesre taksálják és a végtelen egy pontját jelentő galaxisunkét pedig 20 milliárd évesre tartják. A Föld életének kezdete után 200 millió évvel már kialakultak az ősoceánok. A biokémiai szénciklus működésének beindulását és az élet jelenlétére utaló, üledékekben fellelhető mikroorganizmusok létezésére utaló morfológiai leleteket, amelyek prokarióta biomaszák maradványoknak felelnek meg, 3,8 milliárd évesnek tartják. (Ezen adatok alapján a kihülés, továbbá a korai kémiai és szerves evolúció hossza maximum mintegy 700 millió évre tehető, mely időszakot egyesek meglepően rövidnek tartanak. Ezért még azt is feltételezik, hogy az élet kialakulásához esetleg az űrből is érkezhetett "segítség" vegyi anyagok vagy *maximum* spóraszerű preformált élet alakjában.).

A paleontológiai leletekben talált mikrobák "szálszerű" prokarióta szervezetek lehettek, melyek közül egyesek 100 C fok feletti tartományban is szaporodhattak (termofil baktériumok, metanogének). Feltételezhető, hogy a ma élő Archaeobaktériumok hasonlítanak elődeikre. 3,5 milliárd éves kőületekben már fotoautotróf cianobaktérium populációkat is megfigyeltek, amikor a környezeti hőmérséklet maximálisan már csak 70-75 C fok körül mozoghatott. Ezen baktériumok tevékenységének tulajdonítják az oxigén megjelenését a Földön. A jelenlegi vizsgálatok szerint a polifiletikus prokarióták általában izolált sejtek lehettek, de néha az azonos sejtek laza aggregátumokat is képezhettek. Haránthasadással szaporodhattak. Az őseukarióta és annak "leszármazottai" a 2,5 és az 1,5 milliárd év közötti időszakban jelenhettek meg. Feltételezések szerint prokarióta sejtekből sorozatos, fejlődést eredményező, mutációk eredményeképpen vagy következtében alakulhat (alakulhattak) ki az eukarióta (eukarióták). Az eukarióták esetében szöveti szerveződés még nem volt (protozoák) vagy csak primitív kezdemény lehetett (algák, mikroszkopikus gombák). Viszont jellemző lehetett rájuk a telepképzésre való hajlam, mely differenciálatlan sejtek együttélését jelenthette. Sejtoszódással vagy sarjadzással szaporodhattak.



Szaporodásuk lehetett ivartalan vagy ivaros. A többsejtű növények, állatok és gombák feltehetően egy közös ősből jöttek létre az evolúció különböző fokán bekövetkezett elágazások eredményeképpen.

A növényvilág törzsfájáról mintegy egy milliárd évvel ezelőtt ágazhatott le az az *ostoros egysejtű*, amely az állatok és a gombák utolsó közös őse volt. Vannak olyan gombák is, melyek ostor nélküli egysejtűből a vörösmozzatokkal közös ágon fejlődtek ki. Az állatok törzsfajlásának a csúcán található a ma élő emberek, akik valószínűleg ugyancsak egy közös "ősanya" (Éva) leszármazottjai.

A vírusok esetében az életmódjukból következően feltételezik, hogy azok valószínűleg a növényi és az állati sejtek megjelenésével egyidőben vagy azok megjelenése után (tehát, amikor már az élet létezett) alakulhattak ki, mert egyébként nem tudtak volna fennmaradni. Viszont olyan elmélet is létezik, mely

szerint a vírusok őse/ősei (polifiletikusoknak látszanak), valamikor valamilyen teljes értékű növényi és/vagy állati sejt lehetett, melyekből leépülést eredményező mutációk során jöttek létre az első vírusok.

A jelenleg megfigyelhető ubiquiter előfordulású mikroorganizmusok a földi *élet természetes, szerves, aktív résztvevői*. Tevékenységük nélkül sem a világ mai arculata, sem pedig a magasbrendű élet nem létezne. A mikroorganizmusok a bioszféra, a teljes földi ökoszisztéma komponensei. Egymással, a többsejtű élőlényekkel és az élettelen természettel alapvető jelentőségű a kapcsolatuk. A rendszer egyes komponensei közötti kapcsolat, lehet: szaprofita neutralizmus, commenzalizmus, szimbiózis, szinergista, antagonista és végül parazita.

Földünk felszínét évmilliárdok óta tenger borítja. Az archaikus időkben a szárazulatok szilárduló rétege 30 km vastag volt a mai 45 km helyett. A 4 milliárd éves üledékképződés igazolja, hogy a földfelszín borító tenger nem volt forró. A vízgőz ugyanis eltávozott volna a légkörből. A legprimitívebb élő sejt környezetét az előző évmilliók abiotikus körülményei között képződött szerves (protenoid) és szervesetlen vegyületek vizes oldata, szuszpenziója, illetve emulziója alkotta. Ilyen körülmények között olyan obligát anaerob heterotróf szervezetek (progenota) alakulhattak ki, amelyek a szén-dioxid redukciójával metánt, a hidrogén bontásával elektront, az oxidált kén redukciójával kénhidrogént termeltek és az ammónia, illetve a légköri nitrogén hasznosítására alkalmas enzimekkel is rendelkeztek. — Ezek az ősi szervezetek jól működő RNS-, illetve DNS-helyreigazító rendszer kifejlesztésére kényszerültek, mert ez idő tájt a felső légrétegből hiányzott az ózonpajzs, amely a DNS-t károsító ultraibolya sugarak zömét ma elnyeli. Ez a törzsfajlás szempontjából talán előnyös is volt, mert az erős UV-sugárzás a mutációk számát növelte. A kialakuló prokarióta csoport porfirinek szintézisére alkalmas szervezetei között később megjelentek az anaerob fotoszintetizálók, amelyek közül egyesek a felszaporodott hidrogén-szulfid hasznosítására szakosodva nyerték a redukzív folyamatokhoz szükséges elektront. Évmilliókkal később jelenhetett meg az a kékeszöld mikroszervezet (cianobaktérium), amelyik az elektront a víz bontásával biztosította magának, miközben a számára mérgező oxigént kiválasztotta a környezetébe. A savanyú kémhatású őstengerben oldódó oxigén több százmillió éven keresztül a nagy mennyiségben jelenlevő ferro ionokat oxidálta. Az őstenger redukáló pufferkapacitásának a kimerülése után az egyre nagyobb mennyiségben képződő, de a meleg vízben alig oldódó oxigén a légkörbe került. — A hőmérséklet csökkenésével a növekedő oxigénkoncentráció új, aerob eubaktériumok kialakulását tette lehetővé. A mikrovilág azon tagjai éltek túl az oxidatív stressz pusztító hatását, amelyek olyan védekező mechanizmust fejlesztettek ki, amely segítségével a sejten belül fenn tudták tartani a redukáló körülményeket. Sőt az oxigént elektron akceptorként használva ezek a szervezetek élettani előnyt élvezve gazdaságosabban, jobb határfokkal fejlődve vezető szerephez jutottak. Idő pedig bőven volt, mert a meleg tengervízben az oxigén rosszul oldódott. Az anaerobok számára toxikus beoldódott oxigén évmilliókon keresztül a savanyú tengervízben oldott ferro ionok oxidálásában jeleskedett. A ferri ionok pedig a tengeri üledék vasoxid tartalmát növelték. Ezt ellensúlyozandó megjelentek az esszenciális vas felvételét segítő sziderofórok. — A kiszoruló ősi anaerob szervezetek közül egyesek úgy tudtak tovább létezni, ha kisebb méretű, aerob anyagcserével rendelkező szervezeteket kebeleztek be. Az új körülményekhez alkalmazkodó ősbaktériumok a sejtmagot tartalmazó asszociátum felé mozdulva a gombák, illetve az állatvilág felé vezető utat nyithatták meg. Ez az eredetileg anaerob őslény egy ősi kékalda bekebelezésével a fotoszintetizáló lényeket is szolgálatába állíthatta, és ezzel az ősnövény irányába megtette az első lépést.

Természetesen ezen őslényekkel ma már nem találkozhatunk, csak a belőlük kialakult fajok kései leszármazottaival. Ezek a leszármazottak azonban genotípusukban, anyagcsererendszerükben élő kövületként a mai napig őrzik a földtörténet őskorában uralkodó életkörülmények lenyomatát, a létért folytatott küzdelem biokémiai emlékeit. A legidősebb, Dél-Afrikából származó üledékes kőzet, amelyben kétségtelenül kimutatható a fosszilis baktériumok jelenléte 3200 millió éves. Az *Eubacterium isolatum*-nak elnevezett mikroszervezet 0,75 µm hosszú, 0,25 µm átmérőjű pálcika, 0,015 µm vastag sejtfallal. Lehetséges, hogy az ősbaktériumok képviselője, de az is lehet, hogy valamely heterotróf anaerob élőlény volt és a környezetben előforduló szerves és szervesetlen vegyületek szolgálták számukra anyag- és energiaforrásként. — A Barberton-hegységből származó, valamivel fiatalabb kőzetekből *Archeosphaeroides barbertonensis* névvel jelölve kékoszlatok előfordulását is igazolták. Feltételezhető, hogy a bennük előforduló fotoszintetizáló pigment a magasabb rendű aerob élet évmilliókkal későbbi megjelenéséhez teremtette meg az életfeltételeket. Ezen őslények mai leszármazottai arról nevezetesen, hogy a legszélsőségesebb körülmények között is jól fejlődnek. Szélsőségesen sós szikes tavak, vagy a 93 °C-os sós termásvíz egyformán alkalmas élőhely számukra.

Az Ontario államból származó, lényegesen fiatalabb üledékes kőzetekben (argon:kálium arány alapján 2360 millió évesnek tartják őket) már változatos formában, fonalas mikroszervezetek is találhatóak. Megjelennek az autotróf baktériumok, a különböző fémeket oxidáló szervezetek. Az idő előrehaladtával jelentős számban fordulnak elő az algák. Bizonyíthatóan a ma is élő fajok rokonait (*Paleorivularia ontarica*) találták meg közöttük.

A harmadik fejlődési állapotot — a baktériumok és a cianobaktériumok (kékoszlatok) mellett a valódi zöld algák előfordulását — az alig 1000 millió éves ausztráliai kőzetek rögzítették. Ebből a leletből származik az első sejtosztódást bizonyító anyag. Megjelenik a sejtmag! — Az előbbinél fiatalabb kőzetekben már megjelennek a gombák különböző alakjai, a valódi sejtmaggal, kettős kromoszóma készlettel rendelkező eukariótá és ezzel együtt a szexuális szaporodás lehetősége, ami a törzsfajlás felgyorsulására vezetve utat nyitott az élet kiteljesedése felé.

Tetszetős elmélet magyarázza a magasabb rendű szervezet kialakulásában a szimbiózis, a szoros együttélés, az egymásrautaltság szerepét. Jól ismert jelenség, hogy az egysejtű élőlények által elnyelt algák az élőlényen belül is folytatják fotoszintetizáló tevékenységüket. Közismert, hogy a zuzmókban az algákkal együtt élő gombák a gazdanövény nélkül életképtelenek. Ehhez hasonló folyamatok a törzsfajlás folyamán is végbemehettek. Így kerülhettek az anaerob ősbaktériumba az energia szolgáltató szervecskék: a fotoszintetizáló kloroplastok és a terminális oxidációt végző mitokondriumok ősei. Ezek a valamikor önálló, életképes szervezetek évmilliók alatt a gazda belső viszonyaihoz alkalmazkodva elvesztették az önálló lét feltételeit.

## MIKROORGANIZMUS ÉS A HUMÁNPOPULÁCIÓ

A természet fejlődésében a mikroorganizmusok szerepe döntő jelentőségű. Egyedeik nagy száma, gyors szaporodásuk, haploid mivoltukból adódó variabilitásuk alkalmassá tette őket arra, hogy évmilliárdok alatt az alapvető biokémiai folyamatok, a bennük működő enzimszerek összehangolt működése kicsiszolódjon. Évmilliárdok alatt olyan gényűjtemény alakult ki bennük, amely lehetőséget teremtett a magasabb rendű szervezetek kialakulására. — A mikrovilág mint szelektív ágens (fertőző kórokozó) szerepet kapott a magasabb rendű szervezetek egyre tökéletesebb formáinak kialakításában is. A mikrobák szelekciós hatását mutatja, hogy száz évvel ezelőtt a fiatalok alig 50 %-a érte el a pubertás kort. Erre talán csak most döbbenünk rá, amikor több-kevesebb sikerrel mentesítjük magunkat a környezeti tényezők szelekciós hatása alól. Az egészségesebb életmód, a vakcináció és az antibiotikumok használatának terjedésével csökkent a gyermekhalandóság. Határozottan növekedett az átlagéletkor, csökkent viszont a humánpopuláció ellenállóképessége. Néhány generáció alatt sikerül elherdálni az ősök által nem kevés áldozattal összegyűjtött génállományt. Ez természetesen érthető, hiszen nem várható el a magunk által épített piedesztálra emelt EMBER-től, hogy ne saját rövidre szabott, egyszer megélhető életét tekintse a legfontosabbnak.

Az emberi civilizációban, a mindennapi életünkben is jelentős szerepet tölthettek be a mikroorganizmusok, de jelentőségük az elkövetkező időben a jelek szerint még nőni fog. Az ősi élelmiszergazdaság is hasznosította a mikrobák biokémiai aktivitását, noha létezésükről vajmi keveset sejtettek. Az élelmiszertartósítás, a savanyítás, a tejtermékek, a kenyér és a húskészítmények, valamint az alkoholos erjesztéssel nyerhető termékek előállítására szolgáló ősi biotechnológiai folyamatok kimunkálása a biblikus idők kódébe vész. Négy-ötezer éves egyiptomi és mezopotámiai írásos emlékek, többek között a sörfőzés és az ecetkészítés ma is érvényes technológiai lépéseit ismertetik. A mikrobiológiai kutatómunka fejlődését éppen ezeknek az ősi technológiáknak a nagyipari gyakorlatba vétele igényelte. Bajorországban az írásos adatok szerint már a nyolcadik században működtek sörházak az apáról fiúra szálló technológiai lépések szabályait betartva. Az első sörgyár Európában Csehországban indult 1842-ben. —

Pasteur 1865-ben állami megbízást kapott a selyemipart veszélyeztető selyemhernyóvesz tanulmányozására. Szakszerű munkával bizonyította a kórokozó mikroba szerepét. A nagyipari méretben megvalósított biotechnológiai folyamatok első tudományos igényű feldolgozása is Pasteur munkája. 1866-ban a bortermelésről, 1868-ban az ecetgyártásról, 1876-ban pedig a sörgyártásról írott műve jelent meg. Mivel a mikrobiológiai kutatómunka kezdettől fogva szoros kapcsolatban volt a gyakorlati tevékenységgel, egyesek leértékelő hangvétellel csak alkalmazott tudománynak tekintették. Pasteur megsejtette ezen új tudományág művelésének jelentőségét az alaputatásban és szenvedélyes cikkben oktatta ki ellenfeleit, a mikrobiológiai gyakorlat nem más mint a tudomány alkalmazása ("*Il n'y a pas des sciences appliquées... Mais il y a des applications de la science.*")

Pasteur munkássága nagy lökést adva felgyorsította az ipari jellegű mikrobiológiai kutatást. A profitorra törekvő ipari vezetők nem sajnálták a kutatásra adott anyagi támogatást, mert saját tapasztalataik szerint az ipari jellegű kutatási eredmények gyakorlati alkalmazása bőven megtéríti a befektetett tőkét. A századforduló körül már számos szervesvegyipari alapanyag (butanol, aceton, tejsav, stb.) előállítására született gazdaságos fermentációs eljárás. A klasszikus megfogalmazás szerint ugyanis a fermentáció alatt az erjedést, az anaerob körülmények között megvalósuló folyamatot értik. A levegőztetett reaktorok ipari alkalmazása a második világháború után, a penicillintermelés nagyipari megvalósításával kezdődött. Az antibiotikum ipar kialakulásával megindult gyors fejlődés azóta töretlen, sőt a '70-es évek molekuláris biológiai felfedezései, tapasztalataink szerint a géntechnológia eredményeinek gyakorlatba vételével a századfordulóra a mikrobiológia új fellendülési periódusát hozza.

A mikrobiológiai kutatások anyagi alapját még egy kutatási irány, az orvosi mikrobiológia sikerei gazdagították. A zászlóvivő egy német vidéki orvos volt, a Wolstein-ben dolgozó Robert Koch (1843-1910), aki 1876-ban szakszerű munkával izolálta a lépfene kórokozóját az *Anthrax bacillus*-t, majd egéren végzett kísérletekkel igazolta az izolált tenyészet kórokozó voltát. R. Koch eredményeit elismerve hamarosan a Német Császári Egészségügyi Hivatalba hívják. 1879-től mint az Intézet igazgatója vezeti a kutató munkát. Itt olyan munkatársai voltak mint Löffler és Gaffky. Az Intézet hamarosan a fertőző betegségek elleni küzdelem tudományos központjává válik. A Koch vezette német iskola működése 1879-89 között az orvosi bakteriológia aranykorát jelenti. Egymás után izolálják a leggyakoribb megbetegedések kórokozójait: a tífusz és a diftéria kórokozóját, a *Pneumococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Meningococcus*, *Gonococcus* és *Tetanus bacillus*okat. Koch 1882-ben felfedezi a tuberkulózis kórokozóját, az úgynevezett *Koch-bacillus* -t, 1884-ben izolálja az ázsiai kolera



kórokozóját, a *Comma-bacillus* -t, 1906-ban pedig megtalálja az álomkór okozóját és az ellene használható atotoxint.

Meghatározza a patogenitás fogalmát jellemző négy követelményt (Koch féle posztulátum):

1. a kórokozó a beteg szervezetben minden esetben jelen legyen,
2. a kórokozó tiszta tenyészetben izolálható legyen,
3. az izolátum a kísérleti állatban hasonló betegséget okozzon,
4. a kórokozó a beteggé tett állatból is visszanyerhető legyen.

A XIX. század végén az orvosi bakteriológiai kutatásokat anyagilag világszerte támogatták. Állami egészségügyi intézményeket alapítottak a fertőző betegségek elleni küzdelem szervezésére.

Az immunológiai (szerológiai) védekezés Párisból, Louis Pasteur Intézetéből indult hódító útjára. 1880-ban a baromfikolera elleni oltás, a lépfene elleni védelem, a veszettség elleni hatásos oltóanyag előállításának kidolgozása öregbítette hírnevüket. Behring és Kitasato 1890-ben kidolgozták a diftéria és a tetanusz antitoxin-terápiáját. Paul Ehrlich (1854-1915) pedig kifejlesztette az immunológia biokémiai elméletét.

Koch és Pasteur munkásságához kapcsolódik – a ma természetesnek tekintett – az eredmények reprodukálhatóságát biztosító laboratóriumi technológia kialakulása. A szélesztéssel nyert egyetlen sejtből kiinduló tiszta tenyészet morfológiai és fiziológiai vizsgálata; a higításos technika helyett a szilárd táptalajra való szélesztés (platina kacs); gelatin helyett az agar táptalaj használata; a pepton (enzimmel emésztett fehérje), illetve a húskivonat (húsfőzet) táptalajként való alkalmazása az általuk kezdeményezett kutató-fejlesztő munka eredménye.

A víruskutatás első eredményeként 1892-ben megjelent a D. J. Iwanowsky által felfedezett dohánymozaik vírus leírása. Az első felfedezett állati vírus a száj- és körömfájás kórokozója, amit Löffler és Frosh 1898-ban írt le. Az első humánvírus, a sárgaláz kórokozója volt, amelyet az Amerikai Hadsereg Kutatóintézetében Walter Reed vezetésével izoláltak. Végül 1916-17-ben az angol Twort és a francia d'Hérelle egymástól függetlenül felfedezték a bakteriofágot, amely a huszadik század második felében kiteljesedő molekuláris biológiai kutatómunka fontos kísérleti alanyaként vonult be a tudományba.

A mikroszervezetek geokémiai hatását felderítő Sergius Winogradsky (1856-1953 és Martinus Willem Beijerinck (1851-1931) a szén, nitrogén és kén körforgalmában betöltött szerepükkel foglalkoztak. A kemoautotróf baktériumok felfedezése, a nitrogén megkötés igazolása, az általuk célzottan fejlesztett dúsító táptalajok alkalmazása azóta is különleges tulajdonságú szervezetek egyszerű izolálására ad lehetőséget.

A XIX.-ik század végén a mikrobiológia és az általános biológia egymástól függetlenül létezett annak ellenére, hogy a mikrobák okozta fertőzés felismerése és az immunitás kialakulásának problémája akarva-akaratlan kapcsolatot létesített közöttük. Kezdetben Darwin evolúciós elképzelése, a természetes szelekció jelentősége sem mozgatta meg a mikrobiológusok fantáziáját. A biológusok csak a XX.-ik század közepén kezdtek mikrobiológiai módszereket használni a növényi és állati sejtek tenyésztéséhez. Csak századunk első negyedében sejtették meg az izomszövetben lejátszódó folyamatot, illetve az élesztő alkoholos erjedését vizsgáló kutatócsoportok a glikolízis mechanizmusában rejlő párhuzamot. A genetika és a mikrobiológia közötti szoros kapcsolat kialakulását a negyvenes évek felfedezései Delbrück és Luria, majd Tatum genetikai munkái segítették. Az egységessé váló biológiai gondolkodást J. D. Watson és F. H. C. Crick által írt – a dupla szálú DNS szerkezetéről 1953-ban a Nature-ben megjelent – közleményük alapozta meg.

A mikrobiológusok, a molekuláris biológiai ismeretek gyakorlati alkalmazásával gazdagított tudományos-technikai forradalomban tevékenyen részt vettek, illetve részt vesznek ma is. A klasszikus genetikától a géntechnológiáig vezető út egyes felismerései és azok gyakorlati alkalmazásai szinte kivétel nélkül a mikrobákkal végzett kísérletek eredményeként valósulhattak meg.

Logikai és didaktikai szempontból a mikrovilág tárgyalásakor nem a méret szerinti sorrendet választjuk, hanem a fejlődéstani elképzeléseknek megfelelően, először a prokariótákat tárgyaljuk. Ezt követve ismerkedünk meg a fágokkal, majd egy kis kitéréssel a növényi és állati sejt vírusai kerülnek sorra. Ezután tárgyaljuk az eukarionták közül azokat, amelyeket a mikrovilág tagjainak tekintünk (mikroszkopikus gombák és egysejtű lények). Az immunológiai ismeretek elsősorban módszertani jelentőségük miatt kerülnek tárgyalásra, de a mikrobiális fertőzések elleni küzdelemben betöltött szerepükről is megemlékezünk.

## A GÉNTECHNOLÓGIA FEJLESZTÉSÉNEK ÁLLOMÁSAI

Céltudatos szelekció (Franz Karl Achard; cukorrépa.1820)

Céltudatos keresztezés 1858 (*Beta vulgaris*:*B.maritima* hibrid)

Az átöröklés alaptörvényei (Gregor Mendel, 1865; borsó)

A DNS izolálása halspermából (Friedrich Miescher 1869)

A bakteriális fertőzőképesség átvitele (Frederick Griffith 1929) #

A DNS mint az átörökített tulajdonság hordozója (Oswald Avery 1944)

Bakteriális conjugáció, F-faktor (Joshua Lederberg, Tatum 1946)

Génátvitel fág segítségével (Hershey és Chase 1952) Transzdukción

Paraszexuális rekombináció (Pontecorvo 1952)

A DNS duplaspirál szerkezetének felismerése (James Watson és Francis Crick 1953) Az információ RS-re kerül  
tírásra (transcriptio) ami a fehérjeszintézist (translatio) irányítja.

A DNS replikáció keretében készül az átörökítő hű másolat.

Vírusban kimutatott reverz-transzkriptáz az RNS információt DNS-be írja át.

A DNS polimeráz komplex működése, a DNS renaturáció közben elkerülhetetlen a nukleinsav hibridizáció  
bekövetkezése (Marmur és Doty 1961)

George Beadle és Edward Tatum az „egy gén, egy enzim hipotézis” érvényességét igazolja.

Restriktív enzimek felfedezése (Arber 1962)

Plazmid és az R-faktor felfedezése (Watanabe, Mitsuhashi 1965)

Az általános érvényű genetikai kód felismerése (Marshall Nirenberg, Ochoa és Har Gobind Khorana 1966)

A DNS ligáz felfedezése (Gellert 1967)

Az első restriktív enzim izolálása tisztán (1970)

Igazolódik, hogy az eukariótáktól eltérően a prokarióták örökítő anyaga a citoplazma membránhoz kötött cirkuláris  
DNS. A replikáció számos fehérje részvételével (RNS polimeráz, DNS ligáz, DNS polimeráz, etc.), egy adott start  
pontból két irányba indulva félórán belül befejeződik. Matthew Meselson és Franklin Stahl kimutatja, hogy a DNS  
replikáció semikonzervatív. A spontán mutáció  $10^{-7} - 10^{-9}$ , ami az UV fény hatására fokozódik

Conjugációnak nevezett folyamatban a donor prokarióta képes genetikai információtartalmát az acceptor  
partnerbe juttatni Joshua Lederberg vizsgálatai szerint.

Vírus-fertőzés okozta transduktív folyamat is segítheti az információátvitelt.

A mikroorganizmusba került idegen DNS rekombinálódhat (transzformáció) a gazdaszervezet DNS  
állományával (Frederick Griffith; Oswald Avery, Colin MacLeod, Maclyn McCarty)

A riboszómális RNS (rRNS), a transzfer RNS (tRNS) és a küldöncRNS (mRNS) mindkét csoportban  
azonos módon teljesíti feladatát.

A riboszómák felépítése és működése viszont eltérő a két nagy csoport esetében.

prokariótákban a riboszómák az RNS polimeráz aktív centrumáról leváló mRNS fonálra (egymástól kb  
50 bázis távolságban) kötődve indítják a fehérje program szerinti szintézisét.

Az eukariótákban a riboszómák a retikuloen-

dotheliális rendszerbe rögzülve találkoznak a sejtmagban képződött pre-mRNS-ből bizonyos érési folyamat  
keretében készült mRNS információjával

Az első chimer plazmid pSC101 vektor használata (Cohen 1973)

A DNS klónozás technikája (Boyer, Cohen, Berg 1973)

A DNS szekvenálás módszere (Sanger, Barrel-Maxam, Gilbert 1975-77)

A cosmid megalkotása (Collins, Hohn 1978)

A Human Genome (HGP & Celera Nature & Science 2001-02-15)

## Nobel-díjas biológusok

Emil von Behring (1901) A diftéria antitoxin kifejlesztése  
Ronald Ross (1902) A malária parazita felfedezése  
Robert Koch (1905) A tuberkulózis kórokozójának felfedezése  
Charles Laverans (1907) A protozoa mint kórokozó  
Paul Ehrlich és Elie Metchnikoff (1908) Az immunválasz elmélete  
Charles Richet (1913) Anaphylaxia az allergén válasz egy formája  
Jules Bordet (1919) A komplement rendszerek felfedezése  
Charles Nicolle (1928) A tifusz okozójának felismerése  
Karl Landsteiner (1930) A humán vércsoportok felismerése  
Gerhard Domagk (1939) Az antimikrobiális prontosil felfedezése  
Alexander Fleming, Ernst Chain, Howard Florey (1945) Penicillin  
James Sumner, John Northrup, Wedell Stanley (1945) Kristályos vírus  
Max Theiler (1951) A sárgaláz-vakcina kifejlesztése  
Selman Waksman (1952) A sztreptomycin antibiotikum felfedezése  
Frits Zernicke (1953) A fáziskontraszt mikroszkóp kifejlesztése  
Edward Tatum, George Beadle, Joshua Lederberg (1958) A biokémiai mechanizmus genetikája  
Severo Ochoa és Arthur Kornberg (1959) Nukleinsavat szintetizáló enzimek izolálása  
Macfarlane Burnet és Peter Medavara (1960) Immuntolerancia felismerése  
Francis Crick, James Watson, Maurice Wilkins (1962) A DNS szerkezete  
François Jacob, André Lwoff, Jacques Monod (1965) Az enzimszintézis szabályozásának modellje  
Peyton Rous, Charles Huggins (1966) A rákkeltő vírus felismerése  
Robert Holley, Har Gobind Khorana, Marshall Nirenberg (1968) A genetikai kód és a tRNS  
Max Delbrück, Alfred Hershey, Salvador Luria (1969) Fág-genetika  
Earl Sutherland (1971) A cAMP szerepe a mikroorganizmusokban  
Gerald Edelman, Rodney Porter (1972) Az antitestek szerkezete  
Albert Claude, George Palade, Christian De Duve (1974) Az eukarióta sejtszervecskék  
Renato Dulbecco (1975) DNS-tumorvírusok tanulmányozása  
Howard Temin, David Baltimore (1975) RNS-tumorvírusok, a reverztranszkriptáz felfedezése  
Gajdusek Carlton, Blumberg Baruch (1976) Vírusos megbetegedések epidemiológiája  
Werner Arber, Hamilton Smith, Daniel Nathans (1978) Restrikciós enzimek és a géntérkép  
Peter Mitchell (1978) Az oxidatív foszforiláció kemiozmotikus hipotézisének kialakítása  
Baruj Benacerraf, George Snell, Jean Dausset (1980) Az immunválasz genetikai szabályozása  
Paul Berg, Walter Gilbert, Fredrick Sanger (1980) Nukleinsav szekvenálás kifejlesztése  
Barbara McClintock (1983) Mozcékony genetikai elemek felfedezése  
Niels Jerne, George Koehler, Cesar Milstein (1984) Monoklonális antitest előállítása  
Tonegava Susumu (1987) Az antitest sokféleségének genetikai alapja  
Michael J. Bishop, Harold Varmus (1989) Sejteredetű retrovírus onkogén felfedezése  
Richard Roberts, Phillip Sharp (1993) Splitgének felfedezése.  
Edward Lewis, Christian Nüsslein-Volhard, Eric Wieschaus (1995) Az embrionális fejlődésgenetikai szabályozás

A mikrobiológusok tudományos tevékenységének jelentőségét és társadalmi elismertségét bizonyítja századunkban a Nobel-díjjal elismert kutatási eredmények nagy száma.

(Az összeállításban az évszám nem a felfedezés időpontját, hanem a Nobel-díj odaítélésének az évét adja meg)

## A MIKROORGANIZMUS ÁLTALÁNOS JELLEMZÉSE

A mikroorganizmusok természetes környezetükben, azzal ökológiai egységet képezve léteznek. Vizsgálatuk céljából innen kell őket olyan környezetbe áthelyezni, amely életben maradásukat biztosítva, jellemző tulajdonságaik meghatározását lehetővé teszi. Első feladatként a vizsgálandó egyed tiszta tenyészetként (clon) kell elkülöníteni természetes élőhelyéről olyan fizikai és kémiai körülményeket alkalmazva, amely életben maradásukat biztosítja. Ennek a feltételnek a teljesítése általában könnyen megoldható, mert a mikrobák többségének hálózatos felépítésű anyagcsererendszere nagyfokú rugalmassággal, könnyen alkalmazkodhat a változó környezeti körülményekhez. Az élet kezdeményeként megjelenő, a környezetétől magát membránnal elhatároló, önreprodukáló egység kezdetben sem volt elválasztható a környezetétől. Az élet megjelenése óta eltelt évmilliárdok alatt összegyűjtött és az egyed genetikai állományában megőrzött információtömeg változatossága és jól szabályozott kifejeződése a sokszor szélsőségesen változó életkörülmények ellenére is lehetővé teszi a környezetünkben előforduló mikroszervezetek életben maradását. A mikrovilág egyedeinek a fennmaradását egyrészt az autarchiára törekvés, másrészt a környezethez való alkalmazkodás belső kényszerének az együttes jelenléte segíti. Ebben a küzdelemben az autarchiára törekvés mellett a túlélést a környezet átalakítása segíti (például extracelluláris enzimek termelésével). Az élettér meghódítása közben a szaporodó mikrobák szükségképpen találkoznak eltérő tulajdonságú egyedekkel. Ha az életfeltételek szempontjából nem különböznek lényegesen, akkor harmonikusan beilleszkednek immár közös életterükbe. Ellenkező esetben a létért való küzdelem kegyetlen törvényei érvényesülnek. A természetes élőhely mikrobaközösségeinek összetételében tapasztalható jelentős eltérés abból adódik, hogy a szelekciós nyomás alatt az adott körülményekhez legjobban alkalmazkodó egyedek válnak uralkodóvá. Fennmaradásuk a környezet hatásainak az elviselésére szolgáló mechanizmusuk működőképességétől függ. A kiválasztódás szempontja a létért való küzdelem porondján minden esetben csak a gazdaságosság lehet. Az az egyed marad életben, amely az adott körülmények között a legkevesebb energia felhasználásával tudja fenntartani az életműködését. Az élettér meghódítása nagymérvű specializálódással járhat. A gazdaszervezethez, vagy a környezethez való szélsőséges alkalmazkodás lecsökkenti ugyan az élő szervezet rugalmasságát és tűrőképességét, de kárpótlásul az adott élettérben akár uralkodó fajként is megjelenhet. A specializálódás több esetben a túlélés előfeltétele, ami azonban a körülmények változása esetén akár pusztulásuk okává válhat (Az oxigénigényes ecetsav baktériumok a levegőellátó rendszer zavara esetén az ecetgyártó reaktorban elpusztulnak).

A méretükből következően a mikroszervezetek érzékszerveinkkel nem vizsgálhatók. A jellemzésükhöz szükséges ismereteket csak a környezetre gyakorolt hatások felméréséből, illetve átgondoltan megtervezett fizikai és kémiai kísérleti módszerekkel nyerhető adatok kritikai értékeléséből szerezhetünk.

Tudatában kell lennünk, hogy vizsgálati eljárásaink durván megváltoztatják a mikroszervezetek életkörülményeit még akkor is, ha úgy véljük, hogy kíméletes módszereket használunk. A megbízható és reprodukálható adatgyűjtés céljából ugyanis minden esetben eredeti élőhelyéről kiszakítva, homogén tiszta tenyészetként, a válasz értékelhetősége céljából szélsőséges, de ellenőrzött laboratóriumi körülmények közé helyezett tenyészet reakcióit figyeljük. Nem felejtendő, hogy a természet csak a helyesen feltett kérdésre ad kielégítően pontos választ. Kísérleti munkáinkban az idő függvényében változó, számszerűsített adatokat szolgáltató módszerek alkalmazásával sohasem egyetlen sejt, hanem a homogén tenyészet által okozott hatást analizáljuk. Ebből a szempontból előnyös a kémiaiilag egyértelműen meghatározott összetevőket tartalmazó táptalaj — például minimál táptalaj (ammonium szulfát, kálium foszfát, glükóz, nyomelemek) — használata. Érzékelő műszereink technikai színvonalá határozza meg a megismerésünk mélységét. A választott vizsgálati módszerek kivitelezésekor figyelembe kell venni, hogy szakmai állásfoglalásunkat megkönnyíti a feltett kérdésre kapott egyértelmű igen vagy nem válasz.

## A MIKROSZERVEZET KÉMIAI ÖSSZETÉTELE ÉS MÉRETE

A mikroszervezetekben található elemek közül szárazanyagra vonatkoztatva legnagyobb tömegben a szén fordul elő. Molarányban természetesen vezet a hidrogén, majd harmadikként az oxigén, végül jelentős mennyiségben találunk nitrogént az építőelemek között.

Sejtmag nélküli (prokarionta) és maghátyát tartalmazó (eukarionta) szervezet kémiai összetétele:

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
(összegképlet)	$C_{138}H_{266}O_{42}N_{35}P_3S$	$C_{3921}H_{6365}O_{2070}N_{597}P_{40}S_6$
Kén	1 %	0,2 %
Foszfor	3 %	1,2 %
Nitrogén	15 %	9,0 %
Szén	50 %	47,0 %
Oxigén	20 %	33,1 %
Hidrogén	8 %	6,4 %
Hamutartalom	3 %	3,1 %

A mikroszervezetek kémiai összetétele a tenyésztés korától függően változik. Az RNS tartalom például csak a logaritmus növekedési szakaszban éri el az átlag értéket. Ekkor éri el a riboszómák mennyisége a bioszintetikus folyamatok szempontjából optimális szintet. A 75 % vizet tartalmazó baktérium szárazanyagának 60 %-a fehérje. Gondos analitikai vizsgálatokkal 3 % DNS-tartalom mellett 16 % ribonukleinsavat és 15 % foszfolipidet, 3 % poliszacharidot és 3 %-nyi kismolekulájú egyéb anyagot lehet kimutatni. Az élesztő viszont 39,0 % fehérjét, 10,8 % nukleinsavat, 4,5 % foszfolipidet, 1,0 % szterolt, 2,5 % trigliceridet, 34,1 % poliszacharidot és 5,0 % trehalózt tartalmaz. A mikrobák nagy fehérjetartalma nem meglepő, hiszen egyetlen sejtben tartalmazzák az életműködésükhöz szükséges teljes enzimmészletet.

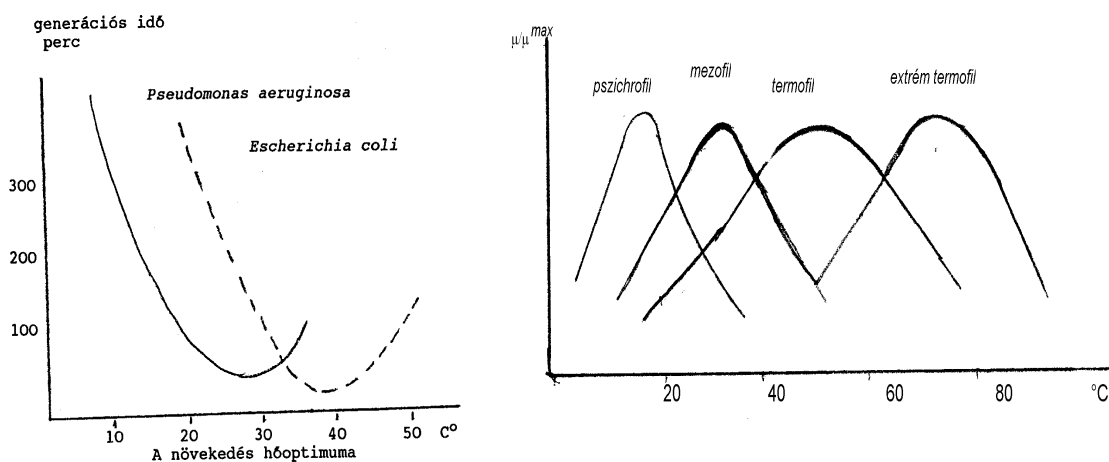
Amíg egy 500 kg-os szarvasmarha egy nap alatt fél kg fehérje szintézisére képes, addig 500 kg élesztősejt 25-50 tonna fehérjét szintetizál 24 óra alatt. Még kedvezőbb a helyzet, ha a rövidebb generációs idővel szaporodó és nagyobb fehérjetartalmú baktériumsejt teljesítményét számoljuk. A mikroszervezetek nagy metabolikus aktivitása élelmiszeriparilag hasznosítható takarmányfehérje termelésre ad lehetőséget. (Megjegyzendő, hogy a szarvasmarha ezt a fehérjemennyiséget a mezőn legelve állítja elő, az élesztősejt viszont nagy költséggel épített speciális üzemben képes a fent említett teljesítményre.)

## A MIKROSZERVEZET ÉS A KÖRNYEZET KÖZÖTTI KAPCSOLAT

A mikroorganizmusok és a környezet között kialakult kapcsolat szempontjából különleges jelentőségű a mikrobák viszonylag nagy fajlagos felülete, ami éppen kis méretükből adódik. A baktériumok átlagos nagysága 1-2  $\mu\text{m}$ , de az élesztőgomba átmérője sem éri el a 10  $\mu\text{m}$ -t. A méretből adódó fajlagos felület hatása jól érzékelhető, ha megfontoljuk, hogy egyetlen köbcéntiméternyi térfogatú kockában  $10^{12}$  db köbmikrométeres ( $\mu^3$ ) kis kocka helyezhető el, ami 10-ezerszer nagyobb felületet jelent. A mikroba számára ez a nagy felület szolgálja a környezettel való kapcsolattartást, az anyagfelvételt és -leadást. Példaként szolgálhat néhány ismert faj széles határok között változó oxigénfelvételének az összehasonlítása a sejtek méretből (1-10-100-500  $\mu$ ) adódó fajlagos felülettel.

<i>Azotobacter sp</i>	2000 ml oxigén $\cdot$ $\text{mg}^{-1}\text{óra}^{-1}$
<i>Acetobacter sp.</i>	1800 ml oxigén $\cdot$ $\text{mg}^{-1}\text{óra}^{-1}$
<i>Pseudomonas sp</i>	1200 ml oxigén $\cdot$ $\text{mg}^{-1}\text{óra}^{-1}$
Élesztők	110 ml oxigén $\cdot$ $\text{mg}^{-1}\text{óra}^{-1}$
Veseszövet	20 ml oxigén $\cdot$ $\text{mg}^{-1}\text{óra}^{-1}$
Falevél	2 ml oxigén $\cdot$ $\text{mg}^{-1}\text{óra}^{-1}$

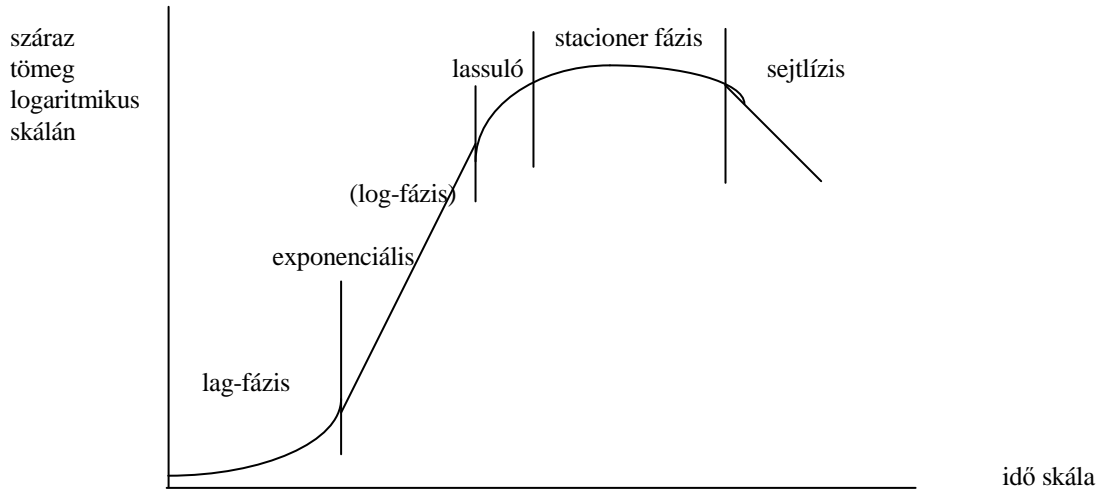
## A MIKROSZERVEZET HŐMÉRSÉKLETÉRZÉKENYSÉGE



A mikroszervezet növekedését befolyásoló tényezők közül meghatározó jelentőségű a tenyésztés hőmérséklete. Ebből a szempontból pszichrofil, mezofil, termofil és extrém termofil csoportokat különböztethetünk meg. Nyilvánvaló, hogy minden esetben a hőmérséklettől függő fizikai, kémiai és élettani jelenségek bonyolult láncolatával találkozunk. A gázok oldhatósága, hidrogén ion koncentráció, viszkozitás, az enzimek hőstabilitása, a membránfluiditás (kémiai összetétel) változása, a transzport jelenségek, a diffúziós és kolloid jelenségek mind eltérő hőfokfüggést mutatnak. A bonyolult összefüggések részletes feltárása nélkül egyetlen paramétert változtatva a generációs idő meghatározásával, vagy valamilyen anyagcsere termék képződésének a mérésével lehet egy-egy faj (törzs) esetében a kiválasztott szempontból optimális hőmérséklet tartományt kijelölni.

## A MIKROBÁK NÖVEKEDÉSE, SZAPORODÁSA

Az élőlény jellemző tulajdonsága a növekedés, amely több ezer, részben ismert enzim katalizálta bioszintetikus lépés eredménye. Ennek a folyamatnak minőségileg elkülöníthető eseménye a sejt osztódása, a teljes sejtciklus lejátszódásával az önmagához hasonló új egyed létrejön. Ideális esetben az élősám kettőzödésével a sejt tömeg is kétszereződik (generációs idő).— A lappangási idő (lag fázis) hossza a környezeti tényező függvénye. Elsősorban az oltótenyésztet biológiai állapotától, korától, az oltótenyésztet és a friss táptalaj összetételében mutatkozó különbségtől függ. A lag-fázis biokémiai történéseit nem ismerjük részleteiben, csupán annyit tudunk, hogy a sejtszám változása nélkül jelentős RNS szintézis észlelhető, amit a növekedéshez szükséges enzimek képződése követ. A fázis fontos eleme a friss tápközeghez való alkalmazkodás és a környezet kedvező irányú befolyásolása.

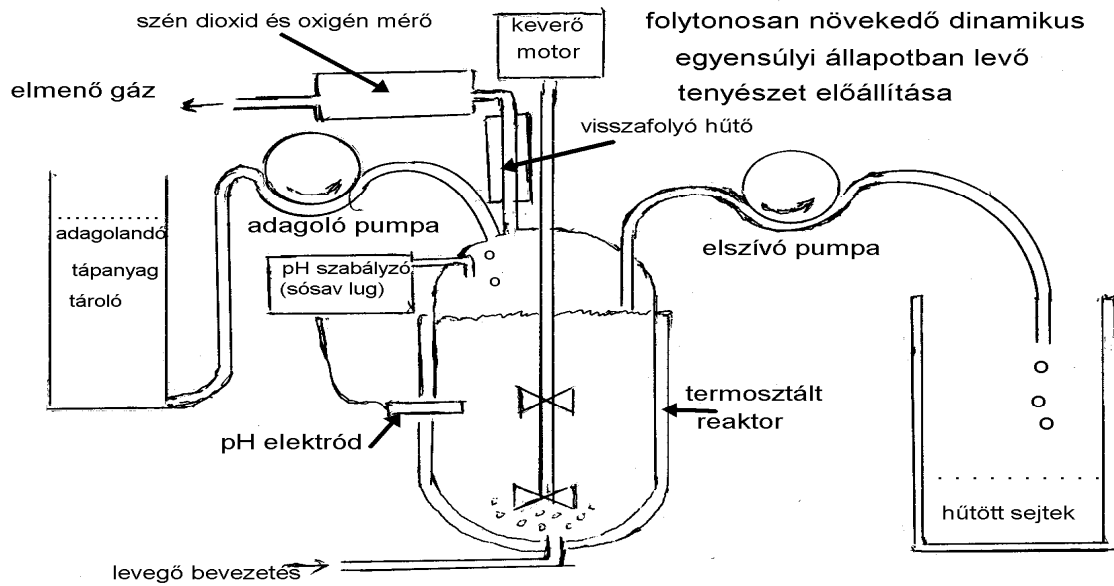


**A mikroszervezet növekedése folyékony táptalajon folytonosan kevert tenyésztetben**

Ez sok esetben bizonyos vegyületeknek a sejtől történő kiáramoltatásával jár. Nagyobb mennyiségű sejttel való oltás lerövidíti a lag fázist; kevés számú sejttel való oltás pedig akár több napra is nyújthatja ezt. A lag fázist egy rövid átmeneti szakasz követi, amelynek a végén a tenyésztetben található sejtek zöme friss osztódásból származó fiatal, virulens egyed. A gyorsuló átmeneti szakasz szinte észrevétlenül vált át az exponenciális fázisba. A növekedés mértéke eléri a ( $\mu_{\max}$ ) maximális osztódási sebességet. A lag fázist követő fejlődési szakaszt azért nevezzük logaritmikus növekedési szakasznak, mivel a mérhető értékek logaritmikus skálán ábrázolva egyenest adnak. Maximális növekedési sebesség csak egy viszonylag rövid szakaszban mérhető, amikor a mikroba növekedését semmi sem korlátozza. A növekedéshez szükséges szubsztrátum elegendő és a gátló anyagcsere termékek felszaporodása is elhanyagolható. — Az **egy ciklusban növekedő tenyésztetben** (batch culture) valójában folytonosan csökkenő tápanyag koncentráció mellett az idő előre haladtával, a tápanyag koncentráció változásának függvényében végül az éhező tenyésztet anyagcsere viszonyairól is bőséges adatot nyerhetünk. A maximális növekedési sebesség az idő előre haladásával csökken, és a növekedési görbe ellaposodva a veszteglő szakaszt (stacioner-fázis) mutatja. A tápanyagok mennyiségében, illetve az összetevők (táptalaj-alkotórészek) arányában bekövetkező változás lassítja az életműködést. A növekedés ugyan még tart, de egyre több életképtelen sejt halmozódik fel. A vizsgálatot tovább folytatva a pusztuló fázisban az élősejtszám csökkenését, majd a sejt tömeg lebomlását tapasztaljuk. Az élni akaró mikroszervezet végül a pusztuló sejtek bomlástermékeiből próbálja a túléléshez nélkülözhetetlen anyagokat összegyűjteni. A magyar szakzsargon ezt az egy ciklusban folyó növekedést — történelmi okból — szakaszos tenyésztésnek nevezi. A reakcióterként szereplő tápközegben állandó hőmérsékleten a hidrogénion-koncentráció és a vizes közegben oldott gázok (oxigén és széndioxid) mennyisége, valamint a mikroba által kiválasztott anyagcsere termékek is befolyásolják a növekedés sebességét. (A légkörben rendelkezésre álló oxigén, vizes közegben való gyenge oldhatósága miatt, nem egy esetben növekedést limitáló faktorként jelentkezhet) Bonyolítja a helyzetet, hogy a növekedő tenyésztetben jelenlevő sejt mérete az idő függvényében változik. A logaritmikus fázis kezdeti szakaszában a sejtek mérete és tömege sok esetben lényegesen nagyobb, mint a logaritmikus fázis végén. Nem egy esetben a logaritmikus fázis kezdeti szakaszában megfigyelhető mozgékonyág (ostormozgás) is később megszűnik.

Az élettani állapot vizsgálatához az egy ciklusban fejlődő tenyésztetnél előnyösebb a folytonosan növekedő (continuous culture) tenyésztet használata. Az exponenciális szakasz növekedési sebességét sejtpusztulás nélkül, tartósan fenn lehet tartani, ha folytonosan adagolt tápanyaggal biztosítjuk az optimális táplálást és ezzel egyidejűleg a túlfolyóval ellátott tenyésztő edényből az anyagcsere termékeket és a képződő sejtek arányos részét a hűthető gyűjtő edénybe juttatjuk. Az erre szolgáló eszköz a **turbidosztát**, amely aseptikus körülmények között a mikroszervezet növekedéséhez szükséges fizikai kémiai körülményeket (keverés, levegőzés, hőmérséklet, optimális pH,) maradéktalanul biztosítja. A dinamikus egyensúlyi állapotban levő (steady state) tenyésztet előállítására érdekesen

a hígítás mértékét az adott generációs idő alapján meghatározott időegység alatt adagolt táptalaj mennyisége határozza meg.



A hígítási állandó ( $D$ ) az átfolyó friss táptalaj és a reaktorban növekedő tenyészet térfogatának hányadosa, amely számszerűen egyezik a specifikus növekedési állandó ( $\mu$ ) értékével. A kihozatali állandó számítható, nem más mint a képződött sejt-tömeg és a felhasznált tápanyag ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) hányadosa. — A növekedési ráta a sejtszaporodás mérésére használt eszközök teljesítményétől függő pontossággal a tenyészet biológiai aktivitásának a jellemzésére szolgál. A tenyészet növekedésének az ütemét az élő sejt-tömeg, illetve az élő sejtszám megkettőződéséhez szükséges idővel jellemezhetjük. A két adat a folytonosan növekedő tenyészetben jól egyezik. Az ilyen egyensúlyi állapotban szaporodó tenyészet tartós fennmaradását az eltávolított tenyészet térfogatával megegyező friss táptalaj folytonos adagolása teszi lehetővé. — Dinamikus egyensúlyi állapotban levő (steady state) tenyészet szükség esetén előállítható rázó asztalra erősített lombikban is kétszatornás perisztaltikus pumpát használva. A hígító táptalaj a vékonyabb, az elszívás pedig erősebb cső használatával oldandó meg.

#### A generációs idő és a specifikus növekedési állandó összefüggése

Generációs idő(óra)	Növekedési állandó $\mu$	$p_t / p_o$
1	0,693	2
2	0,345	1,41
3	0,230	1,26
4	0,173	1,198
5	0,124	1,15

$p_t$  = sejt-tömeg  $t$  órában  
 $p_o$  = sejt-tömeg 0 órákor

A mikroorganizmus fiziológiai állapotára vonatkozó adatgyűjtésre széleskörben alkalmazzák a **kemosztátban** való folytonos tenyésztést. Ez esetben limitáló faktorként szabadon választható a táptalaj valamelyik nélkülözhetetlen összetevője (szénforrás, nitrogénforrás, a foszfát vagy a kén). De limitáló komponens lehet az oxigén is. A mikroszervezet fiziológiai állapotát a hígítási ráta állítja be, mert a sejtben felhasznált tápanyag komponensek aktuális mennyisége, az anyagforgalom (turnover) döntően befolyásolja az élettani viszonyok koncentráció függő szabályozottságát. Az exponenciális fázis specifikus növekedési rátája a kemosztát kultúrában a hígítási rátával egyezik. A hígítási rátát növelve a köztesanyagcsere szabályozási mechanizmusa is érvényesül, sőt bizonyos metabolitok termelése is lehetővé válik. Az átfolyási ráta további emelését adott esetben a kimosódás akadályozhatja. — A mérhető növekedés tehát számszerű adatot szolgáltat a vizsgálandó szervezet élettani állapotáról. Elfogadhatónak látszik az a feltételezés, hogy az életkörülmények kedvezőbbé válására bizonyos mértékben a képződő sejt-tömeg mennyiségéből következtethetünk. A növekedés ütemét valójában egy-egy limitáló hatású enzim teljesítménye határozza meg. Bármilyen sejt-méreg vagy enzimgátló anyag jelenléte, tápanyaghány vagy kedvezőtlen fizikai körülmény a generációs idő megnyúlását, a sejtszaporodás sebességének a csökkenését okozhatja. A mikroorganizmus növekedési sebessége a mikroszervezet és a környezete közötti viszonyra jellemző számszerűen megadható adat. A munkahipotézis szerint a növekedési sebesség fokozódása az optimális körülményekhez való közeledést jelzi. Ennek az adatnak a megbízható mérése, a növekedés ütemének a meghatározása, nem könnyű feladat. Ezt a megállapítást igazolja az irodalomban és a laboratóriumi gyakorlatban használt mérési módszerek nagy száma. (Száras sejt-tömeg mérés, élő sejtszám változás mérés, fényelnyelés mérés, nefelométer használata, DNS- tartalom mérés, fehérjetartalom-mérés, stb.)

Jack Monod 1942-ben bevezetett egyenlete a szubsztrátum hasznosíthatóságára vezeti vissza a növekedési sebesség alakulását. Formailag a specifikus növekedési rátára vonatkozó egyenlete megegyezik a Michaelis-Menten féle klasszikus enzimkinetikai egyenlettel.

Michaelis-Menten

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_M + S}$$

V = reakciósebesség

S = szubsztrátum

$V_{\max}$  = maximális reakciósebességi állandó

$K_M$  = féltelítési S konc.  $V_{\max}/2$ -nél

Megjegyzendő, hogy a Michaelis-Menten egyenlet gátlószert nélkül, ép (kémiailag stabil) enzimet használva érvényes.

Monod

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S}$$

$\mu$  = specifikus növekedési ráta

S = növekedést limitáló tápanyag (g.L<sup>-1</sup>)

$\mu_{\max}$  = a  $\mu$  maximális értéke

$K_S$  = féltelítési koncentráció  $\mu_{\max}/2$ -nél

(limitáló tápanyag mennyiség használatakor!)

Megjegyzendő, hogy Monod egyenlete exponenciálisan növekedő homogén sejtszuszpenziót és metabolizálható szubsztrátumot (S) használva érvényes.

A baktériumsejt növekedése optimális esetben exponenciális összefüggést mutat a tenyésztési idővel. Húsz perces generációs időt feltételezve 10 osztódással három és fél óra alatt a kiindulási sejtszám ezerszeresét mérhetjük. További hat óra múlva egyetlen sejtől kiindulva az élő csíraszám megközelíti a 100 milliót. Gyakorlatilag egy kezdeti lappangási szakasz, várakozási idő (lag-fázis) után, a növekedés intenzív szakaszában mérhetjük a tenyésztés hőfoka által befolyásolt — *Escherichia coli* esetében 20 perces — generációs időt. Ha a sejt térfogatot 1  $\mu\text{m}^3$ -nek tekintjük, akkor 48 óra alatt 20 perces generációs idővel  $2,2 \times 10^{25}$  m<sup>3</sup> protoplazmához jutnánk. Megjegyzendő: a Föld térfogata csak  $1,1 \times 10^{21}$  m<sup>3</sup>!

### A TÁPTALAJ-ÖSSZETÉTEL HATÁSA A MIKROBA NÖVEKEDÉSRE.

Alaptételként elfogadandó, hogy a mikrobatörzsek az anabolikus és katabolikus folyamatok változó arányú működtetésével a kísérletező személy számára minden esetben az adott tenyésztési körülmények között lehetséges optimális szaporodási teljesítményt nyújthatnak. — A növekedés mérése ennek megfelelően olyan zárt rendszerben végezhető, amely a vizsgálandó homogén tenyésztet életfeltételeit biztosítja. Minden mikroszervezet az életműködéséhez, növekedéséhez szükséges építőelemeket előnyösen a tápközegből szerzi, illetve a felvett anyagokból saját szervezetének felépítéséhez szükséges bonyolult vegyületeket enzimrendszereivel állítja elő. Ha a tápközeg valamilyen természetes eredetű növekedési faktort, például élesztőkivonatot is tartalmaz, akkor a mikroba gyorsabban fejlődik, mert az életműködéséhez szükséges vegyületek szintézisére fordítandó munkát megtakarítja. Célirányosan a tápközeg (táptalaj) a vizsgálandó szervezet fejlődéséhez szükséges valamennyi összetevőt tartalmazza. A vizsgálandó homogén tenyésztet oltott tápközegbe a növekedés szempontjából ideális hőmérsékleten tartva, időrendben követjük a megfigyelhető élettani változásokat. Kiegyensúlyozott növekedéshez a faj, illetve törzs számára optimális <sup>szén/nitrogén</sup> arányú táptalaj használata kívánatos. Ez esetben a mikroszervezet nem kényszerül nagyobb mennyiségben lebontó, illetve átalakító enzimrendszerek működtetésére. Baktériumok tenyésztésére előszeretettel használják a húsvest szén- és nitrogénforrásként, mert a növekedéshez és a szaporodáshoz szükséges építőelemeket bőségesen tartalmazza. — A mikroba élettani tulajdonságaira vonatkozó adatok gyűjtése és az élő rendszer tanulmányozása céljából azonban kívánatos, hogy mérőmódszereinkkel a szükséges építőelemek felvételét követni tudjuk. Ezért előnyösebb kémiailag tiszta, ismert összetételű tápközeg használata, szükség esetén olyan ismert anyagokkal kiegészítve, amelyeknek előállítására a törzs genetikai okok, például bizonyos enzimek hiánya miatt képtelen. Az úgynevezett vad törzsek általában az élő szervezet felépítéséhez és szaporodásukhoz szükséges építőelemek előállítására szolgáló teljes enzimkészlettel rendelkezve az anyagcsererendszer bonyolult összefüggéseinek a felderítésére alkalmasak.

Az *Escherichia coli* élettani vizsgálatára alkalmas minimál táptalaj összetétele:

0,062 M foszfát puffer

0,0004 M magnézium-szulfát

0,015 M ammónium ion

0,0225 M glükóz (illetve 0,045 M glicerin) mint szénforrás

A táptalaj összetevői jól mérhetők. Az anyagfelvétel és -leadás kémiai módszerekkel követhető. Az *E. coli* terminális oxidációval, illetve fermentációval is jól működő energianyerő folyamata lehetőséget adott a bonyolult összefüggő, számtalan kerülő utat működtető anyagcsere-hálózat részletes vizsgálatára, különös tekintettel annak a szabályozási mechanizmusaira. — A tenyésztet sejtjei természetesen időben jól elkülöníthető, minőségileg eltérő fejlődési szakaszokra osztható egyéni életciklusukat élik. A gyorsan osztódó baktériumok tenyésztésében az egyedek fejlődési szakaszainak random eloszlása miatt az egyes sejtek élettani állapota, egyetlen sejtben történt változások általában nem vizsgálhatók. Különleges körülmények között, például szinkronizált kultúrában viszont tanulmányoz-

hatóvá válik. A szinkronizálás egyik módszere, ha a vegetatív oltó tenyészetet limitáló glükóz koncentráció jelenlétében (például 0,00045 M glükóz) inkubáljuk 8-10 órán keresztül. Átoltáskor a kiéhezett de életképes sejtekben a bőséges glükózt tartalmazó táptalajon egyszerre indul a növekedés. A szinkron fejlődés azonban csupán néhány kettőződésen keresztül érvényesül.

A szénforrásként hasznosítható vegyületek mennyiségi változása akár folyamatos méréssel is jól követhető. Szénhidrátokon, szénhidrogéneken, polialkoholokon kívül az aminosavak szénváza, zsírok, szerves savak is hasznosulnak energiaforrásként. A mikrobiológiai laboratóriumok kutató és ellenőrző munkájukhoz – különösen rendszertani kérdések eldöntésekor – a polialkoholok és a szénhidrátok képviselőit előszeretettel alkalmazzák, mivel fajokra jellemzően sok esetben eltérő mértékben hasznosulnak. A sejtmembránon való áthaladásuk, illetve foszforilációjuk sebessége eltérő lehet. Az ipari gyakorlatban előszeretettel használják szén és energiaforrásként a glükózt, illetve növényi polimerjét a keményítőt. A diszacharidok közül a szacharózt és a laktózt alkalmazzák. Pentózok közül a xilóz, illetve polimerje a xilán, a polialkoholok közül pedig a glicerin, lipidek közül a növényi olaj alkalmazása említhető.

Nitrogénforrásként biológiai felhasználhatóság és könnyű kezelhetőség szempontjából az ammóniát vizes oldatként, esetleg nitrát-, szulfát-, illetve foszfátos formájában vagy karbamidként adják a tápközeghez. Meghatározott körülmények között a mikroorganizmusok egy csoportja képes a légköri nitrogén megkötésére. Teljes értékű táptalaj alkotórészeként előnyösen használhatók a növényi (szója-, mogyoró-, gyapotmag-, lucernaliszt formájában), valamint az állati eredetű fehérjék, esetleg oligopeptidekre hasított (kazein, húskivonat, kazamin, pepton, tripton) formában. Szerves nitrogént tartalmazó táptalajokban az aminosavak általában nem olyan arányban fordulnak elő, amint a mikroszervezet igényli. A főlegben levő aminosavakat a közti anyagcsere enzimek lebontják vagy a szükségletnek megfelelő aminosavakká alakítják. Előnyösen használhatók tápanyagként bizonyos ipari folyamatok melléktermékei. A szeszleparlás után visszamaradt koncentrátum (szeszmoslék), vagy a keményítőtögyártás melléktermékeként visszamaradó kukorica-áztatólé tejsavas erjesztésével nyert koncentrátum. Ez utóbbi termék biosz anyagokban gazdag kukoricalekvár néven kerül forgalomba. Sertéstápszerként, ill. fermentációs eljárások táptalajában nitrogénforrásként kerül felhasználásra.

Biosz anyagokat tartalmazó élesztőkivonatot (olcsó vitaminforrás!) adva a tápközeghez a mikroszervezet növekedése jelentős mértékben serkenthető.

A fémionok a táptalajok esszenciális alkotórészei. Nagyobb mennyiségben a kálium és a magnézium, nyomokban a vas, a cink, a mangán, a molibdén, a kobalt, a réz és a kalcium jelenléte szükséges. Nyomelemeket általában a tápanyagok szennyeződésként – illetve a csapvíz – elegendő mennyiségben tartalmaz. Anionként foszfát és szulfát jelenléte nélkülözhetetlen. Ebből következően igényeink szerint kemosztátban akár foszfátlimitált tenyésztési körülményeket is beállíthatunk.

A nedvesség a mikrobák természetes élőhelyén nélkülözhetetlen; hasznos, vagy káros tevékenységüket meghatározó faktor a víz. A prokarióták nem képesek magukat megvédeni a kiszáradás ellen. Természetben való létezésük víz jelenlétéhez kötött. A tenyésztésre használt légtermosztátokban (inkubátor) ezért a páratartalom megőrzésére fokozottan ügyelni kell. Rothadás, korhadás, penészedés nedves körülmények között indul meg. A mikrobák okozta káros hatások szempontjából a trópusi páratelt klíma különösen veszélyes!

A szén-dioxid jelenléte az élővilág számára alapvető jelentőségű. A mikrovilág szénforrásként képes hasznosítani a Föld légkörében kezdettől fogva jelenlevő szén-dioxidot. A metanogének elektron akceptorként hasznosítják: Négy hidrogénmolekula felhasználásával ATP és két molekula víz képződése mellett metánná redukálják. Nemcsak az autotróf ősbaktériumok és fotoszintézissel élők kötik a széndioxidot ferredoxinnal működő redukzív citromsavciklus segítségével, de az aerob energianyerő folyamatokkal rendelkező szervezetek számára is nélkülözhetetlen bizonyos vegyületek szintéziséhez. A piroszőlősav, illetve foszfoenol-piroszőlősav karboxilezése az egyetlen lehetőség az oxidatív citromsav ciklus feltöltésére minden olyan esetben, amikor a mikroszervezet építőelemeinek képződése a Szent Györgyi-Krebs-ciklust terheli. Az arginin, a piridin és a purin származékok képződése szén-dioxid jelenléte nélkül leáll. A legtöbb aerob mikroba növekedése erősen levegőztetett táptalajon nem indul meg, csak álló kulturában, mert a membrán kialakulásához szükséges zsírsavak (malonil-CoA igény) képződéséhez a légkör parciális szén-dioxid nyomásának egy minimális szintet kell elérnie. Ez nem meglepő, mert az élővilág kialakulásakor, a növényvilág megjelenésekor, a légkör szén-dioxid tartalma a mai szintet lényegesen meghaladta. Ennek kései emléke, hogy fóliasátorban a légkör szén-dioxid tartalmának növelése a növények fejlődését segíti.

A hidrogén az élő szervezetet felépítő elemek között legnagyobb mennyiségben fordul elő. Az élővilág kialakulásakor elektron forrásként hidrogént hasznosító enzimszerek szerveződtek. Az így nyert protont használja fel a bioszintézis folyamataiban. Mai életkörülményeik között a bendő mikro-flórájában, az életközösség valamelyik tagja állítja elő számukra az elemi hidrogént. Az aerob élő világ a tápanyagként felvett vegyületek dehidrogénezésével nyert protont használja a bioszintézisben. Jelentős mennyiségű hidrogént juttatnak a környezetbe a nitrogén kötő baktériumok.

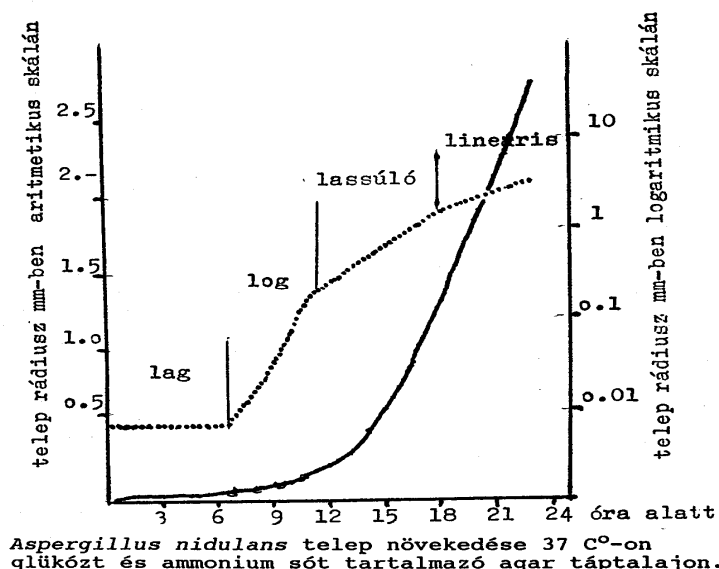
Az oxigén az aerob mikrobák számára életműködésük fenntartása szempontjából mint légzési szubsztrátum (elektron akceptor) meghatározó jelentőségű. Egyes vegyületeknek a képződése, például a gombák membránjában levő szterinek bioszintézise a légköri oxigén jelenlétét igényli. Mélyfermentációs (süllyesztett) eljárásoknál, különösen a gombák esetében — csekély ( $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) vízzoldhatósága miatt — az oxigén limitáló faktorként jelentkezhet. A kifejlesztett eljárások technológiai megoldásai a választott organizmus kielégítő oxigénellátását szolgálják. Laboratóriumi körülmények között az oxigén parciális nyomásának a növelése is hatásos lehet oxigén bevezetésével.

Tanulságos megfigyelni a fehérjeszintézis és a ribonukleinsav-szintézis összefüggését a növekedési sebességi állandóval különböző szénforrást tartalmazó *Escherichia coli* tenyészet adatait tartalmazó táblázatban, ahol minimál táptalajon a generációs szám jelentősen csökken.

Táptalaj	Generációs szám / óra	DNS $\mu\text{g}$ / mg sejt	rRNS $\mu\text{g}$ / DNS $\mu\text{g}$	tRNS $\mu\text{g}$ / DNS $\mu\text{g}$	Fehérje $\mu\text{g}$ / DNS $\mu\text{g}$	Fehérje $\mu\text{g}$ / RNS $\mu\text{g}$	Ehérje $\mu\text{g}$ / rRNS $\mu\text{g}$
Húsleves	2,4	30	0,3	2.-	22	3,7	4,5
Glukóz*	1,2	35	3,9	2,4	21	2,8	4,6
Glicerín*	0,6	37	2,4	2,4	21	1,8	3,6
Glutamát	0,7	40	0,9	0,9	21	1,0	3,3

\* N forrásként ammónium szulfátot használnak

A növekedés követésére a tenyészet fehérje-, vagy DNS tartalmának meghatározása. előnyös módszerként alkalmazható, mert a fehérje/DNS hányadost a tápközeg összetétele és a generációs szám alig befolyásolja. Az is jól látszik a táblázat adataiból, hogy a sejt növekedési sebessége és a riboszómák száma, azaz a rRNS, valamint a tRNS mennyisége szoros összefüggést mutat. Ezt erősíti meg az összes RNS tartalom alakulása is.




A fonalas gombák növekedésének mérése agar táptalajon is kivitelezhető. A telepátmérő növekedésének mértéke illetve leállása sok esetben nem a táptalaj esszenciális összetevőinek a hiányát jelzi, hanem lehet az eukariótákra jellemző öregedési folyamat következménye.

A fonalas szervezetek esetében azt is figyelembe kell venni, hogy a telep egyidejűleg különböző fejlődési állapotban levő sejtek egymással pórusokon keresztül érvényesülő összeköttetésben állnak. Lásd bővebben a mikroszkopikus gombák tulajdonságait tárgyaló füzetet.

## A MIKROSZERVEZET MEGJELENÉSI FORMÁJA: AZ ÉLŐ SEJT

Az élő sejt fennmaradását két, elvileg eltérő törekvés ötvözte biztosítja. Egyidejűleg érvényesül az autarchiára törekvés és a környezethez való alkalmazkodás, a környezetbe való beilleszkedés gazdasági kényszere. (A létért való küzdelemben az győz, amelyik gazdaságosabban képes fennmaradását biztosítani.) A mikroorganizmusok protoplazmájában működő anyagcsererendszert a sejtburrok legfontosabb alkotóeleme, a citoplazma membránja, a sejthártya határolja el a környezettől. Nemcsak elválasztja attól, hanem egyben össze is köti, mivel az anyagfelvétel és -leadás ugyancsak ezen az elválasztó burkolaton keresztül történik, mégpedig egyrészt passzív, de nagyjából aktív transzportjelenségek eredményeként. — A mikroba megjelenési formáját, morfológiai képét, alakját és méretét ugyancsak a sejtburrok egy alkotóeleme, a sejthártyán kívül elhelyezkedő, viszonylag szilárd sejtfal határozza meg. A mikroszkópi kép alapján megkülönböztethető megjelenési formát a legismertebb családok neveivel, mint típusnévvel jelölik (coccoïd, bacilloïd, vibroïd, spirillum, sarcina, diplococcus, stb. alak). A tenyésztési körülményektől függően változó alakban megjelenő szervezeteket "pleomorf"-ként tárgyalják a morfológusok.

coccus		gömbalakú
diplococcus		enyhén deformált kettős gömb
tetracoccus		négy gömböcskéből álló sejtcsoport
streptococcus		láncszerűen elhelyezkedő gömböcskék
staphylococcus		szőlőfürtszerűen összetapadt gömbök
bacillus		rövid vagy hosszú pálcika
coccobacillus		elnyúlt gömböcske
fusiform bact.		elvékonyodó pálcika (szövőórsóhoz hasonló)
fonalias alak		elágazó fonalak
vibrio		görbült pálcika
spirillum		rugószerűen spirális alak
sarcina alak		8 vagy több sejtől álló sejtcsoomag

A mikroorganizmusok egy csoportját, meghatározó jellegű anatómiai különbségként a sejtfalon kívül egy második, úgynevezett külső membrán választja el a környezetétől. A mikroszervezet külső felületén különböző antigénektől ismert szénhidrát-polimerek, illetve változó szerkezetű, mozaikszerűen elhelyezkedő fehérjemolekulákból álló réteg borítja. A sejtburrok külső rétegeként sok esetben több-kevesebb nyálkás poliszacharidot tartalmazó, sokszor kocsonyás természetű anyag (glükokális) található; ha ez jelentősebb vastagságú, akkor toknak nevezzük.

## A PROTOPLAZMA (CITOPLAZMA) ÉLETTANI JELENTŐSÉGE

A régebbi elnevezés a görög  $\pi\rho\omega\tau\omicron\varsigma$  ősi és  $\pi\lambda\alpha\sigma\mu\alpha$  csinálmány szavak összevonásából, az újabb a görög  $\kappa\upsilon\tau\omicron\varsigma$  üreges test felhasználásával született. Közönséges fénymikroszkópon vizsgálva a prokariota sejt tartalma homogén fényáteresztő anyagnak tűnik. A festett készítményeken látható szerkezeti elemek valóságtartalmát a sejt különböző sűrűségű alkotóelemeit megkülönböztető fáziskontraszt mikroszkóptechnika eredményei erősítették meg. Az elektronmikroszkóp fejlődése azután egyre részletesebb információt szolgáltatott az élő sejt szerkezeti elemeiről. Láthatóvá vált az örökítő anyagot tartalmazó maganyag, a DNS, a fehérjeszintézisért felelős riboszóma, különböző, membránnal határolt vezikulumok, mikrotestek. A citoplazmát a sejtfalától megfosztott mikroszervezet, - a protoplaszt - mechanikus vagy ozmotikus roncsolásával nyerhetjük. A kolloidkémiai jellemzőket a membránroncsoktól centrifugálással szabadíthatjuk meg. Kémiai dezoxiribonukleinsav, ribonukleinsav és nagy mennyiségű fehérje mellett nagy molekulaméretű szénhidrát polimerek jelenléte igazolható. A kismolekulájú frakcióban aminosavak, nukleotidok, szénhidrátok, lipidek mutathatók ki, de több mint 60féle nukleotid-cukorszármazék fordul elő például sejtfalépítéshez, illetve tokpoliszacharid képződéshez szükséges prekursoroként. Sűrűséggradiens centrifugálással a citoplazmából különböző sűrűségű frakciókat lehet elkülöníteni. Az új biokémiai vizsgáló módszerek — a fehérjefrakciók szétválasztásával — az anyagcsere enzimeiről nyert ismereteinket szaporítják.

A citoplazma fehérje frakcióját a sejtanyagcsere lebontó és felépítő reakcióit katalizáló enzimek összessége alkotja. Az élő sejt roncsolásával kapott kivonatokból nyerhető enzimeket az elmúlt ötven évben laboratóriumi körülmények között részletesen vizsgálták. Reakciókinetikailag jellemezve, sokat közülük kristályos formában is előállították. A kapott eredményeket a legtöbb esetben nem sikerült működőképes egységbe összehangolni. A sejt kivonatokban mért koncentrációviszonyok a legtöbb esetben nem érték el az enzimek optimális működéséhez szükséges szintet. Ezek az enzimek ugyanis *in vivo* funkciójuknak megfelelően, fehérje-komplexek, vagy lazább asszociátumok formájában reakciósorokká rendeződve — a reakció sorrendnek megfelelően egymáshoz molekuláris közelségben — számos esetben szinte a kristályvizükben működnek. A reakciósor köztermei általában nem jelennek meg a citoplazma teljes térfogatában, mert a képződő termék a szomszéd enzim szubsztrátumaként folyamatosan felhasználásra kerül. A térbeli közelség miatt egy-egy enzim aktív központjában könnyen kialakulhat az a szubsztrátum koncentráció, amely az enzim optimális működéséhez szükséges. Szerencsés esetben ez az asszociatív kapcsolat a gondosan végzett feltárás körülményei között is megmarad, ami a vizsgálatokat lehetővé teszi. Az élő sejtben a lebontó és felépítő folyamatok bonyolultan kapcsolódva összefüggő, rugalmas anyagcserehálózatot alkotnak. A bonyolult összefüggések egy-egy célvegyület előállítására különböző alternatív utakat biztosítanak. A gazdaságosság elvéből következik, hogy egy adott időszakban nincs jelen a teljes enzimekészlet. Az egész lebontó és felépítő rendszert kifinomult mechanizmus szabályozza. A változó életkörülményekhez való alkalmazkodást a genetikai állományban levő lehetőségek hasznosítása segítheti. A szelekciós nyomás hatására új mutációk megjelenése várható. A szabályozás színvonala adott esetben a létért való küzdelem porondján a túlélést meghatározó faktorrá válik. Az élettér betöltéséért folyó versenyben a leggazdaságosabban működő lény lesz a győztes, miközben az anyag és az energia gazdaságtalan felhasználói automatikusan kihígnak a populációból.

### SZÉNHIRÁT-ANYAGCSERE A CITOPLAZMÁBAN

Valójában a biokémiai evolúció történései között először a glükóz képződést katalizáló reakciósor (glükoneogenesis) alakult ki, mert a környezetben az ősi időkben aligha fordult elő hasznosítható szénhidrát. Később, amikor ezek a vegyületek feldúsultak a környezetben, akkor kapott fontos élettani szerepet a szénhidrát lebontás útja (glükolízis). A szénhidrát-anyagcsere fogalma valójában a lebontó és a felépítő folyamatok egyidejű működését jelenti. Ezt mutatja a reverzibilisen működő glicerinsavfoszfát-kináz elnevezése, amely az ATP energiátartalmát hasznosítva a glicerinsav-foszforsav vegyesanhidrid létrejöttét katalizálja. A karboxilcsoport redukciójához a vegyesanhidrid csoport kialakulása feltétlenül szükséges.

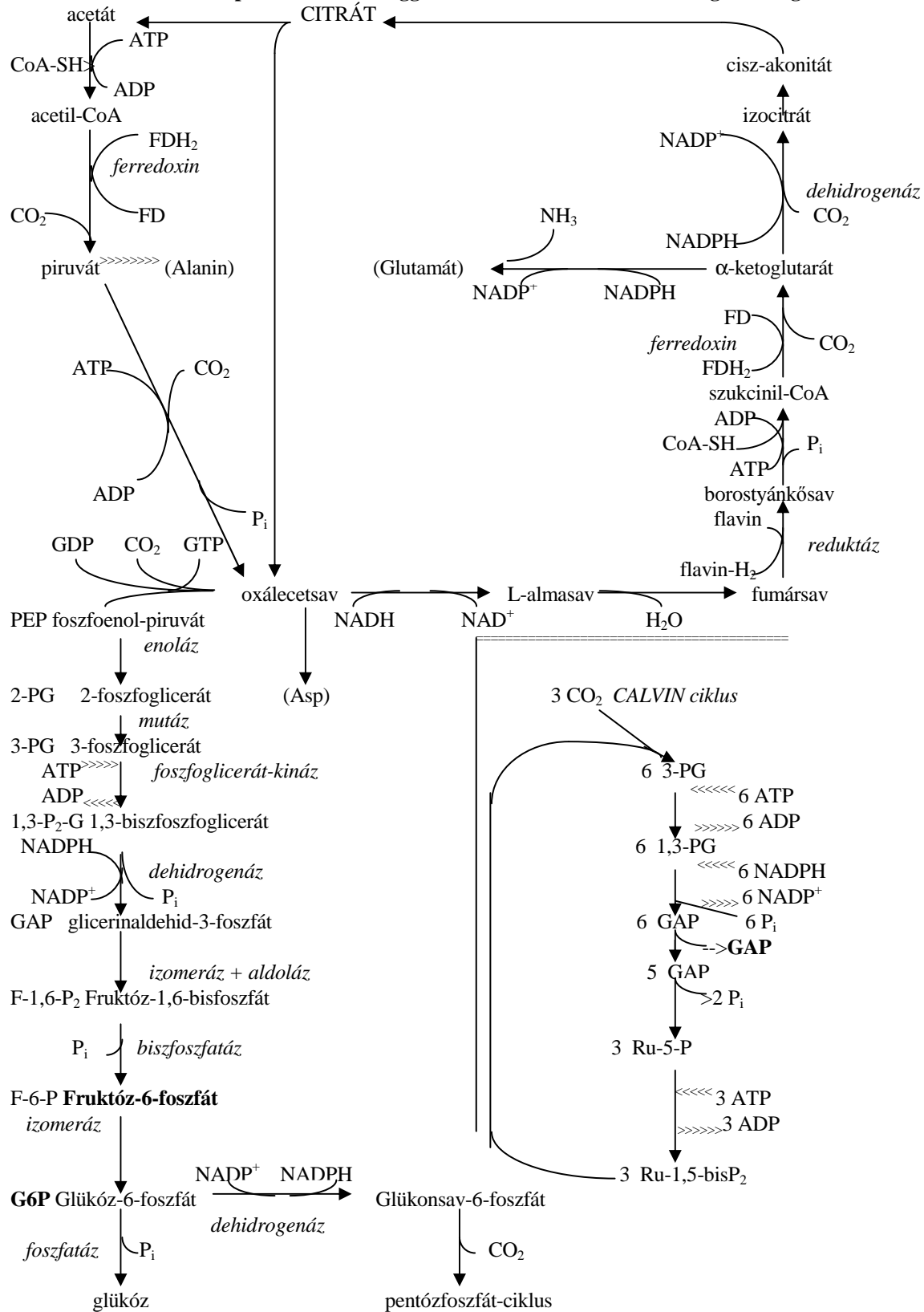
A glükóz szintézis esetében a glükolízisben is szereplő reverzibilis enzimeken kívül néhány speciális enzim működik. Ezek feladata a gyakorlatilag irreverzibilisen működő, katabolikus funkciót betöltő enzimek kiváltása. Ilyen feladatot lát el a foszfoenolpiruvát karboxikináz, amelyik oxálcetsavból a GTP energiátartalmát hasznosítva egy szén-dioxid felszabadulása mellett foszfoenol-piroszőlósavat képez. (Oxidáló légkörben kialakuló folyamatban az oxálcetsav képződését piruváttól egy szén-dioxid felvételével az ATP energiátartalmát hasznosítva a piruvát-karboxiláz katalizálja.)

A másik kritikus ponton a fruktóz-1,6-biszfoszfát-foszfátáz katalizálja a fruktóz-6-foszfát képződését egy anorganikus foszfát felszabadításával. A következő reakció lépésben az izomeráz segíti elő a glükóz-6-foszfát képződését. Ebből a cukorfoszfátból (G-6-P) képződik a membrán alkotóelemeként ismert inozitol, a sejtfal szintéziséhez szükséges glükózamin és ebből indul a hexózmonofoszfát (HMP) úthoz kapcsolódó pentózfoszfát ciklus, amely többek között a nukleinsavak építőelemeiként ismert ribóz képződésére, valamint az aromás aminosavak szintézisére ad lehetőséget. A G-6-Ő hidrolízisét szükség esetén a glükóz-6-foszfátáz katalizálja.

A szigorúan anaerob mikroszervezetekben (*Chlorobium sp.*, *Sulfolobus sp.*) talált ferredoxin függő redukív citromsav ciklus végzi az archaeozoikum redukáló légkörében jelenlévő szén-dioxid megkötését (Proc. Natl. Acad.

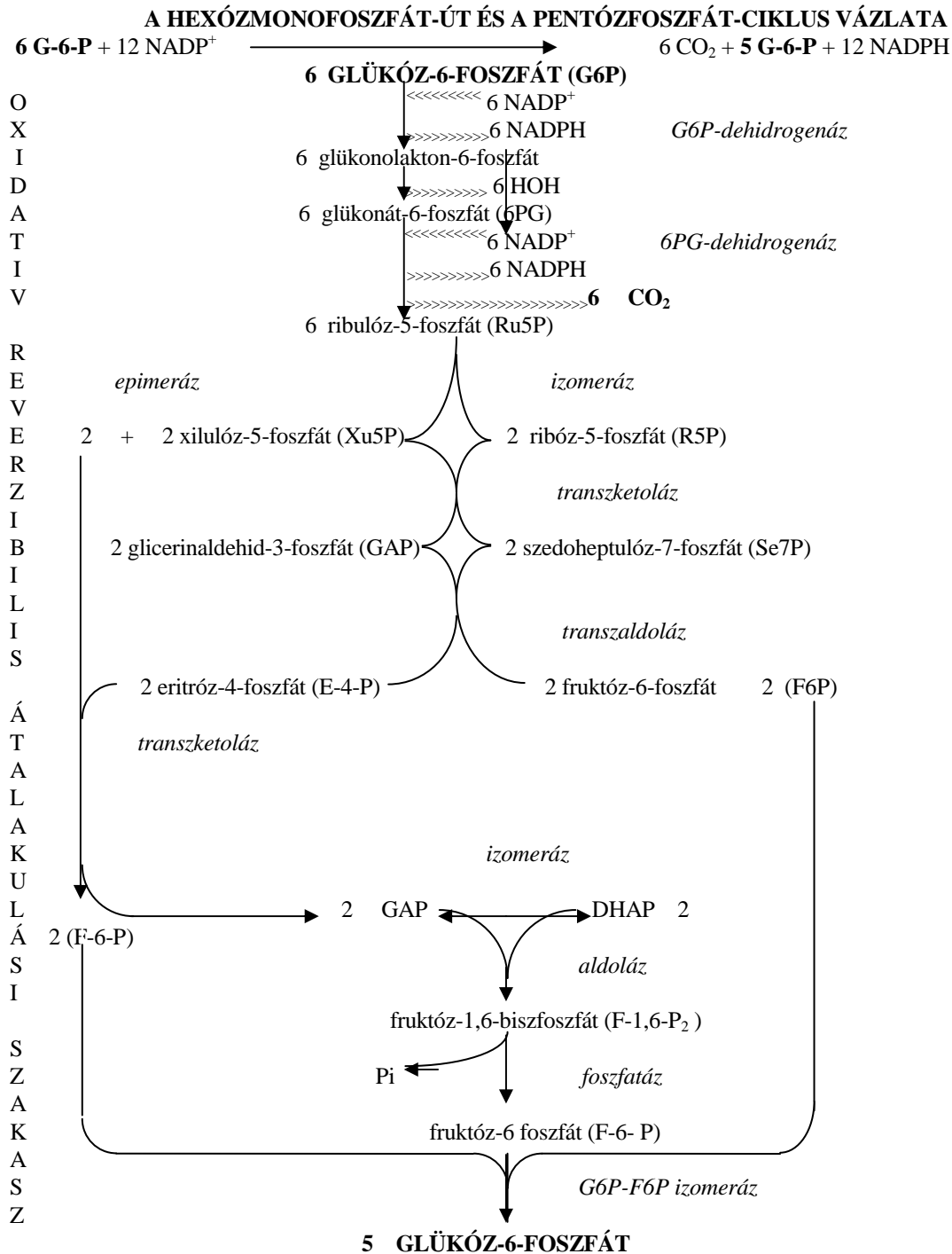
Sci. 55:928-34, 1966.). A glükózt szintetizáló rendszert a redukzív citromsav-ciklusban termelődő oxálecetsav tölti fel. Az oxálecetsavból NADH függő redukcióval almasav képződik, amiből vízkilépéssel képződik a fumársav. Ezt redukált flavin mononukleotid alakítja borostyánkőssavvá.

### CO<sub>2</sub>-ot beépítő /ferredoxin-függő/ redukzív citromsav ciklus és a glükoneogenesis



A szukcinil-CoA képződéséhez ATP és CoA-SH szükséges. Redukált ferredoxin segíti a CO<sub>2</sub> felvételt. A képződő α-ketoglutarát NADPH segítségével újabb CO<sub>2</sub> felvételével alakul izocitráttá, amiből cisz-akonitáton keresztül citromsav képződik. A citromsav oxálecetsavra és acetátra hasad. Ez utóbbi ATP energiátartalmát hasznosítva CoA-

SH-val lép reakcióba és acetyl-CoA-vá alakul. Az acetyl-CoA redukált ferredoxin segítségével CO<sub>2</sub> -ot köt. A képződő piruvát ATP energiátartalmát hasznosítva újabb CO<sub>2</sub> felvételével oxálcetsavvá karboxileződik. Az oxálcetátról foszfo-enolpiruvát-karboxikináz és GTP segítségével képződik a foszfoenolpiruvát amely táplálja a glükóz képződést katalizáló reakciósort. Körfolyamat szolgáltatja a két amino-dikarbonsavat, a glutamin savat és az aszparagin savat, valamint az alanint függetlenül a folyamat oxidáló, illetve redukáló irányától. Aszparagin savból az elágazó szénláncú aminosavak, metionin, treonin és lizin képződnek, de innen indul a porfirin- származékok szintézise is. — (Emlékeztetőül a (ferredoxin-függő) redukzív citrátkört bemutató ábra jobb alsó sarkában a széndioxid megkötés szempontjából fontos ribulóz-5-foszfátot hasznosító Calvin-ciklus vázlata található, amelyben az energiát az ATP, a redukáló erőt a NADPH szolgáltatja. Érdemes összehasonlítani a két útra jellemző folyamatot. Három szén-dioxidból nyerhető glicerinalehid-3-poszfát képződéséhez a Calvin ciklus 9 ATP energiáját és 6 NADPH által szállított elektront hasznosít. A redukatív citromsavciklusban felvett 3 szén-dioxid glicerinalehid-3-foszfáttá alakítását 6 ATP, 3 NADPH, 1 NADH, 2 redukált ferredoxin és egy redukált flavin mononukleotid segíti.)



A hexózmonofoszfát-út (HMP) - másnéven pentózfoszfát-ciklus - fejlődéstörténetileg talán az első szabályozott lebontási utat képviseli. Működése a mikroba számára esszenciális, mert számos létfontosságú vegyület képződését teszi lehetővé. Valójában a pentózfoszfátok reverzibilis átalakulásával jellemzett ciklus a szénlánc rövidülésével kezdődik. A glükonsav foszfátból ribulóz-foszfát képződik. Ez az út szolgáltatja a ribonukleinsav- és a dezoxiribonukleinsav ribóz építőelemeit. — Itt képződik az aromás aminosavak bioszintéziséhez szükséges szedoheptulóz-7-foszfát és köztes anyagként megjelenik a gliceraldehid-3-foszfát (GAP). Ez utóbbi a glikolitikus úton piroszőlősavig oxidálódva ATP képződéséhez vezet a légköri O<sub>2</sub> hiányában, tehát anaerob körülmények között is.

A kiindulási vegyületként szereplő fruktóz-6-foszfát (F6P) a G-6-P-ből képződik egy *izomeráz* hatására. Ez a reverzibilisen működő enzim a glükózszintézisben szerepel. A G6P/F6P egyensúlyi elegyben a reakció 7:3 arányban a G-6-P irányában tolódva a glükóz reszintézisének kedvez. A következő reakciólépés, amelyet a *fruktózfoszfát-kináz* katalizál, a nagy szabadenergia csökkenés miatt (14,6 kJ) irreverzibilis. Az enzim aktivitását alloszterikusan gátolja a citrát, az ATP és a NADH. Az ADP viszont alloszterikusan serkenti az enzim működését. Jól látható, hogy az ATP-hiány végeredményben serkent egy reakciót, amely maga ugyan ATP-t emészt, de elindít egy olyan folyamatot, amelyik bőséges ATP-képződést eredményezhet. Az ATP felhasználásával képződött fruktóz-1,6-biszfoszfát (F-1,6-P<sub>2</sub>) az *aldoláz* hatására két triózfoszfátra bomlik. A két reakciótermék a gliceraldehid-foszfát (GAP) és a dihidroxiaceton-foszfát (DHAP) közötti átalakulást a *triózfoszfát-izomeráz* katalizálja, mégpedig jelentős mértékben a DHAP irányában eltólva az arányokat.

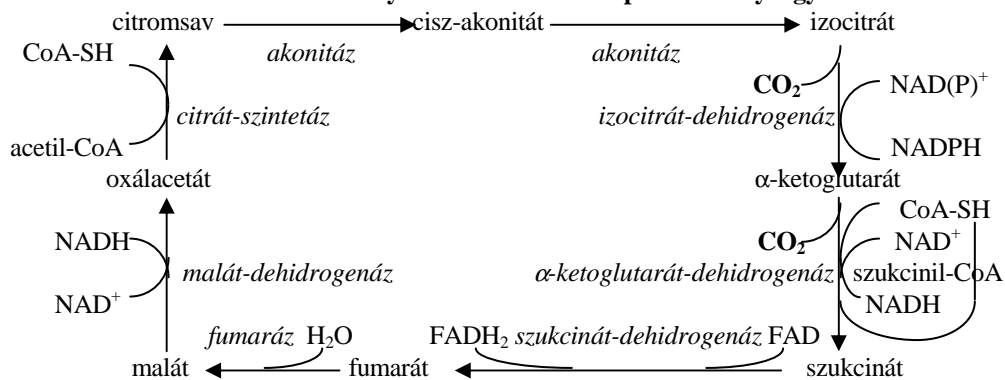


Ez az arány felhívja a figyelmünket arra, hogy valójában ezek az enzimek elsősorban a glükóz szintézisben érdekeltek. A triózfoszfát képződés adott esetben a foszfolipid-szintézis glicerin-foszfát igényét elégíti ki. Fontosabb azonban a reverzibilisen működő, anaerob körülmények között is működőképes glikolitikus út táplálása.

A HMP-út foszforilezett, nagy energiataartalmú kiindulási anyaga a glükóz-6-foszfát (G-6-P), amely általában a glükóz aktív felvételekor a citoplazma membránon való áthaladás közben képződik a hexózpermeáz aktív tevékenységének hatására. — A HMP-út működésével egyetlen szénatom szén-dioxiddá alakulása mellett két redukált kofaktor (NADPH) képződik. Ezek a redukált koenzimek a bioszintetikus folyamatok szempontjából — például a membrán felépítéshez, a zsírsav szintéziséhez, a szén-dioxid beépítéséhez — szükségesek.

Aerob körülmények között a reakcióút iránya megváltozik, a klasszikusnak tekintett, acetyl-CoA-val táplált Szentgyörgyi-Krebs körfolyamat ad lehetőséget a szénváz teljes elégetésére. A dehidrogénezési folyamatban elvont elektronok az oxidatív foszforiláció keretében kerülnek az elektronakceptoroként szereplő oxigénre.

#### Az aerob körülmények között működőképes Szent-Györgyi Krebs ciklus vázlata



A mikroorganizmusok a sejtömegük felépítéséhez szükséges szénhidrátokat a citoplazmájukban működő enzimrendszereikkel képesek előállítani. Mégis, ha lehetséges, akkor a gazdaságosság elvének megfelelően a környezetükből veszik fel azt. Az élővilág egységes szerveződésének felismerése ellenére az áttekinthetőség kedvéért, didaktikailag előnyös a lebontó, a felépítő és az energianyero folyamatokat biológiai-kémiai szempontból elkülönítve tárgyalni.

#### A hexózbontó utak aktivitása a mikroszervezetekben (%-ban)

Mikroorganizmus	EMP-út	HMP-út	KDPG-út
<i>Candida utilis</i>	80	20	
<i>Streptomyces griseus</i>	97	3	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	77	23	
<i>Escherichia coli</i>	72	28	
<i>Bacillus subtilis</i>	74	26	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		29	71
<i>Acetomonas suboxydans</i>		100	
<i>Pseudomonas saccharophila</i>			100
<i>Hydrogenomonas sp.</i>			100
<i>Zymomonas mobilis</i>			100

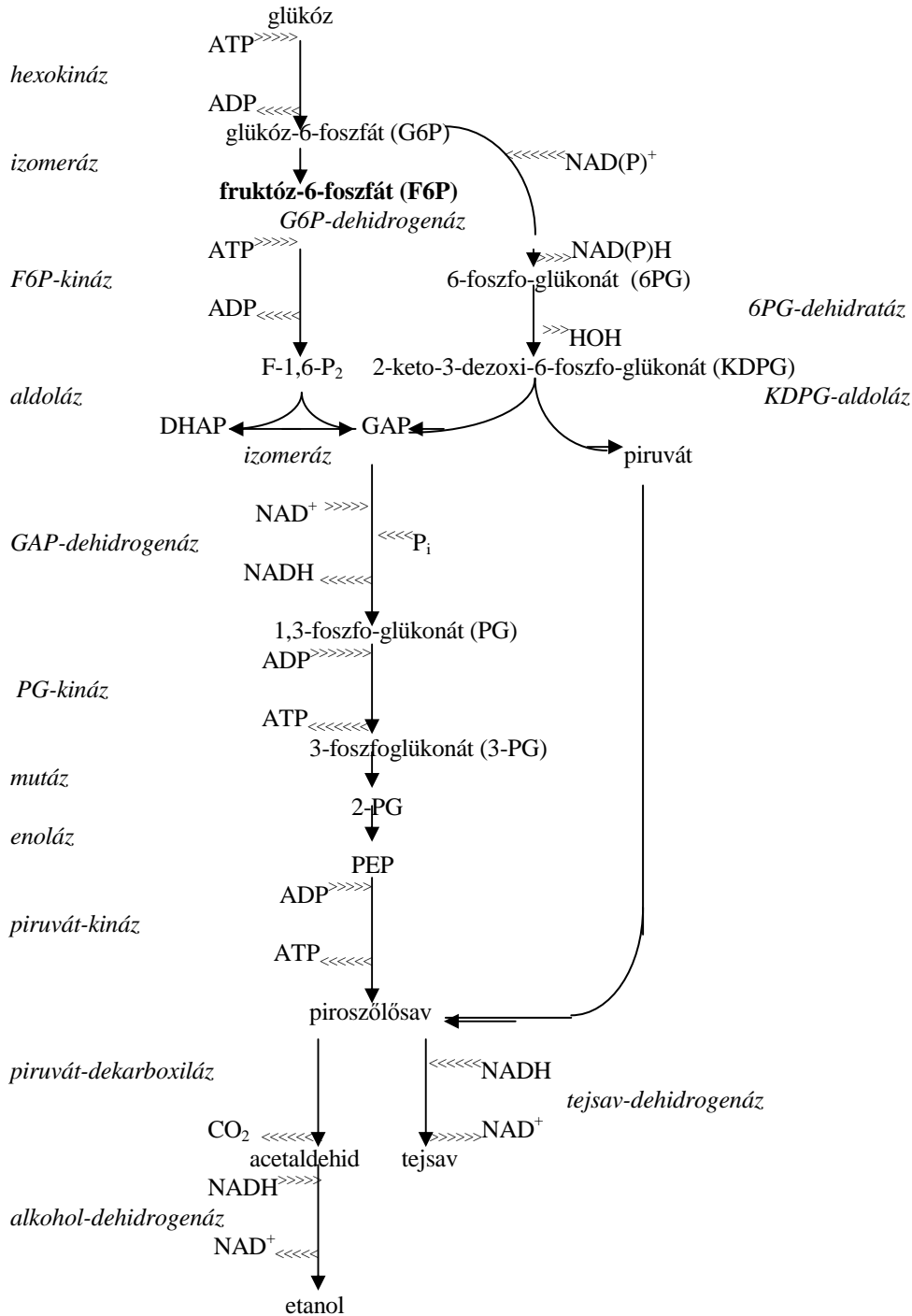
## A SZÉNHYDRÁTLEBONTÁS ALTERNATÍV ÚTJAI A MIKROVILÁGBAN

Az egyes reakció utak aktivitása a mikroorganizmusokban fajok szerint is eltérő lehet, de a növekedés különböző szakaszaiban is az igényeknek megfelelően, eltérő hatásokkal működhetnek. A tápközeg szénforrásából az anyagcsere úttól függő mértékben tudja a mikroszervezet a növekedéséhez szükséges energiát felszabadítani. Az *Escherichia coli* glükóz-limitált folytonos tenyésztése 10,3 g sejt képződésére képes 1 mol ATP terhére, a *Lactobacillus casei* esetében ez az érték 24,3 g. A növekedési szakasz nagyobb pentózigénye az előző fejezetben említett pentóz-foszfát ciklus, a HMP-út fokozott működését igényli; a lassuló szakaszban viszont előtérbe kerül a glikolízis, az Embden-Meyerhof-Parnas felfedezőiről elnevezett, röviden EMP-út

### A HEXÓZOK GLIKOLITIKUS LEBONTÁSA ANAEROB KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT

EMP-út vázlat

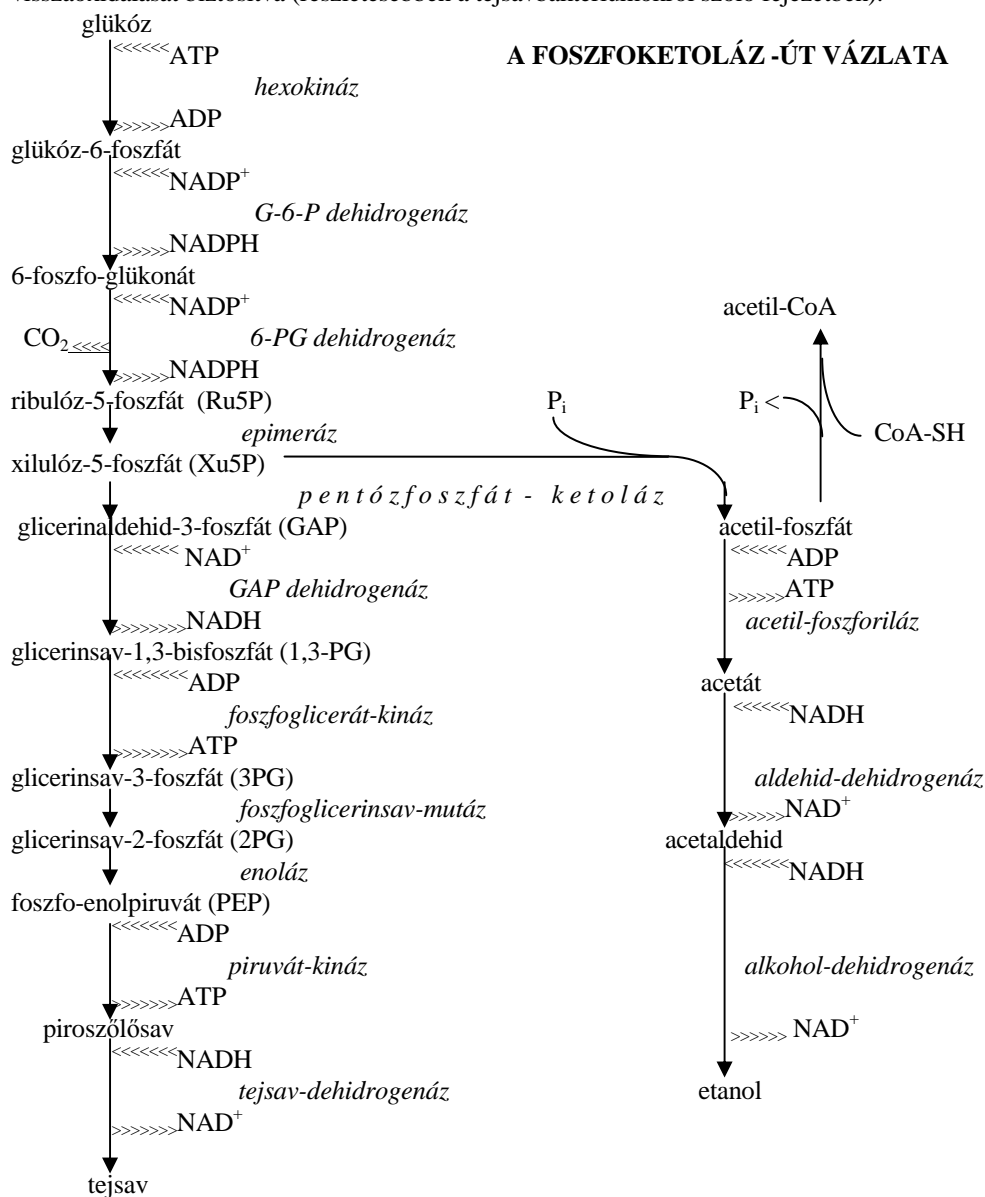
KDPG-út vázlat



A felfedezőiről Embden-Meyerhof-Parnas útnak nevezett, fruktóz-biszfoszfáton keresztül vezető, több mint tíz enzim egymást követő működését igénylő reakciósor aerob és anaerob körülmények között is alkalmas energianyérésre szubsztrát szintű foszforilációval (ATP nyerésre). A citromsavat termelő *Aspergillus niger*-ben a növekedési szakaszban az EMP:HMP út aránya 1:1, ami a citromsavtermelő szakaszban 8:2-re módosul.

A ketodezoxi-foszfoglükonsav út (KDPG), látszólag a HMP-útból ágazik ki. A 6-foszfó-glikonátból (6PG) egy *dehidráz* segítségével képződik a 2-keto-3-dezoxi-6-foszfó-glikonát, amit azután az *aldoláz* hasít piroszölősavra és GAP-ra. Ez utóbbi a glikolízis során képes egy ATP képzésére. Ez az EMP-útnál régebben kialakult ősi megoldás tehát gazdaságatlanabban hasznosítja a szénhidrátban rejlő energiát.— A különböző szénhidrát-anyagcsere utak köztitermékeként megjelenő triózfoszfát (GAP) ugyanis energiaforrásként szerepel. A GAP foszfoenol-piroszölősavon (P-E-P) keresztül vezető reakcióúton dehidrogéneződik, miközben szubsztrát szintű foszforilációval képes kielégíteni a mikroba energiaigényét. A GAP $\rightarrow$ piroszölősav átalakulás két ADP $\rightarrow$  ATP-tá alakulását biztosítja. A glikolitikus út működése azonban csak a GAP dehidrogénezése közben képződő redukált kofaktor (NADH) visszaoxidálása esetén zavartalan, elmaradása leállítja az energianyerő folyamatot, leállítja az anyagcserét, leáll a mikroba növekedése.

A foszfoketoláz út (PK) a pentózfoszfát útból ered. Egyes baktériumfajok (a hetero-fermentáló tejsavbaktériumok) képtelenek a F-1,6-P<sub>2</sub> aldolízisére. Bizonyos enzimek (*aldoláz*, *transzketoláz*, *transzaldoláz*) hiánya esetében a túlélés lehetőségét jelenti, hogy képesek a xilulóz-5-foszfátot egy anorganikus foszfát felvételével acetil-foszfátra és GAP-ra hasítani. Az acetil-foszfátban megőrzött energia hidrolitikus folyamat kapcsán ATP képződését eredményezheti. Anaerob körülmények között az acetil-foszfát etanollá redukálódhat két NADH visszaoxidálását biztosítva (részletesebben a tejsavbaktériumokról szóló fejezetben).



Ezek az enzimek, amint látható, a katabolikus folyamat megfelelő enzimeivel kis ciklusokat képeznek. Ezek a mini körfolyamatok a sejt belső energiakészletétől függően a szubsztrátum gyors visszanyerését teszik lehetővé, majd az alloszterikus szabályozási mechanizmussal kiegészülve a lehető leggazdaságosabb élettani viszonyokat alakítják ki a mikroszervezetben.

Anaerob körülmények között a fermentációra (erjesztésre) képes mikroorganizmusok anyagcseretermékeik redukálásával, sejten belül igyekeznek a redukált kofaktorok regenerálását megoldani. Így jelenhet meg primer termékként az etanol, a tejsav, az aceton, a butanol, a propionsav, a vajsav, az izopropanol. A termékek sejten belüli felhalmozódása zavart okozna az anyagcserében, de zavart okoz a belső tér savanyodása is, mert a szubsztrátum dehidrogénezésekor a redukált piridin-nukleotid képződés minden esetben egy-egy proton megjelenésével jár együtt. A proton eltávolítása életfontosságú. A rövid szénláncú savak - így a tejsav is - nem disszociált formában zavartalanul halad át a membránon, miközben elősegíti a proton távozását a külső térbe. Ebből következik, hogy a savanyú termék, ez esetben a tejsav eltávolítása a reakciótérből javítja a mikroba életfeltételeit. A membránon kívül a tejsav a híg oldatban disszociálva, a protongrádiens kialakulásának kedvez.

#### 100 MMOL GLÜKÓZBÓL KÉPZŐDŐ FERMENTÁCIÓS TERMÉK mMOL-BAN

	Élesztő	<i>E.coli</i>	<i>Propionibacterium.</i>	<i>Butyrobacterium.</i>	<i>C.butylicum</i>	<i>C.acetobutylicum</i>
Vajsav	0,21			29,0	17,2	4,3
Laktát	1,37	79,5		107,0		
Acetát	15,1	36,5	10,0	88,0	17,2	14,2
Formiát	0,49	2,43				
Szukcinát	0,68	10,7	7,8			
Butanol					58,6	56,0
Etanol	129,9	49,8				7,2
Aceton						22,4
izopropanol					12,1	
Szén-dioxid	148,5	88,0	63,6	48,0	203,5	221,0
Hidrogén		75,0		74,0	77,6	135,0
Butándiol	0,68	0,3				
Glicerín	32,3	1,42				
Propionát			148,0			6,4

(Részletesebb adatok található az egyes baktériumokkal foglalkozó fejezetekben)

## NITROGÉN-ANYAGCSERE A CITOPLAZMÁBAN

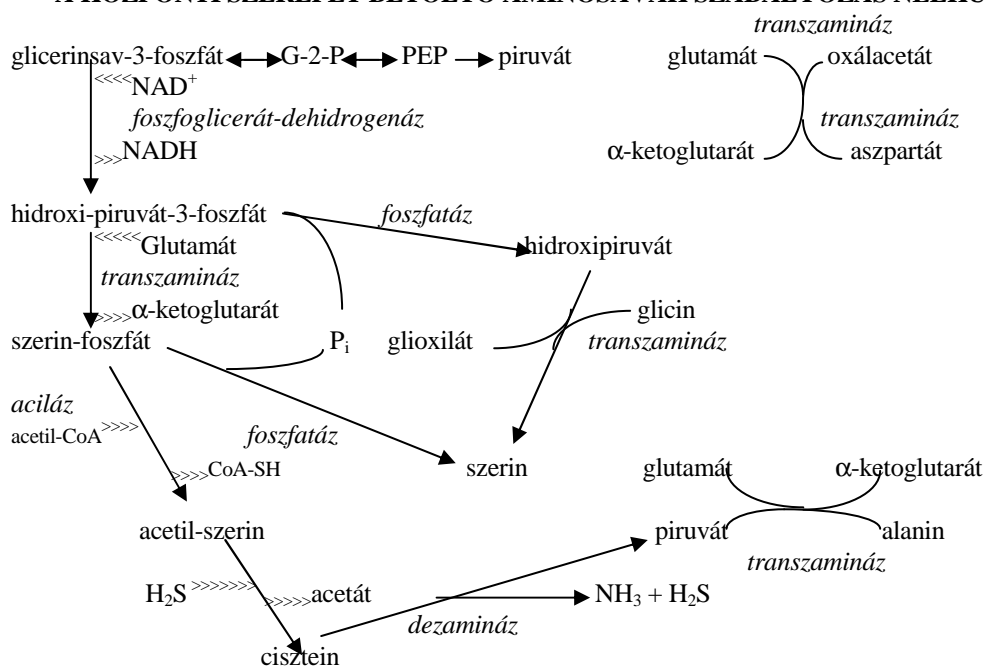
A citoplazmában folyó nitrogén-anyagcsere didaktikailag anabolikus és katabolikus folyamatra különíthető. Valójában a két folyamat egymáshoz kötődve, egymást kiegészítve működik, szoros kapcsolatban a szénhidrát anyagcserével. A mikrovilág ide sorolt anabolikus folyamatai életfontosságúak az egész élővilág fennmaradása szempontjából. Az esszenciális aminosavak bioszintézisére, a légköri nitrogén megkötésére, bizonyos vitaminok, kobalamin származékok előállítására csak a mikrovilág képes. Nem számíthat más szervezetek segítségére. Az evolúció színpadán egyetlen sejtben kellett kialakítania a gazdaságos életvitel mechanizmusát, és ezzel a magasabb rendű élet kialakulásában és fenntartásában szerepe meghatározó jelentőségűvé nemesedett. Nem véletlen, hogy az aminosav-anyagcsere részletes megismerése, felderítése a mikrobiológiai biokémia művelőinek érdeme.

A létért folyó küzdelemben a fehérjeszintézis az élet fennmaradásának az alapja. Ezért nem csak a genetikai információ hibátlan átmásolásában, de a mechanizmus működésének a gazdaságosságában is versenyhelyzet jött létre. A leggazdaságosabb életvitel kimunkálása céljából bonyolult szabályozási mechanizmusok ellenőrzik, irányítják a biokémiai történéseket. A teljes értékű természetes sejtfehérjét felépítő 20 aminosav előállítására csak a prokariota képes. A bioszintézis utak felderíthetőségét elsősorban a  $^{14}\text{C}$  és  $^{15}\text{N}$  -izotóppal jelzett vegyületek sorsának nyomon követése tette lehetővé a nagy szorgalommal előállított hiánymutáns törzsek sejtmentes kivonatában.

Az aminosavakat aktiváló enzimek csekély mérvű szubsztrátspecifitása csak meghatározott összetételű aminosav készlet [pool] esetén tudja biztosítani a tRNS állomány helyes feltöltését. A koncentrációviszonyok, az arányok bármilyen okból bekövetkező eltolódása, hibás tRNS feltöltést és ennek következményeként hibás, működésképtelen fehérjék szintézisét okozhatja. Nem meglepő tehát, hogy a bioszintézis és a lebontás szabályozottságának bonyolult, de eredményesen működő mechanizmusa alakult ki az evolúció folyamán. A főleges aminosavak eltávolítása a zavartalan fehérjeszintézis szempontjából ugyanannyira létkérdés a mikroba számára, mint a teljes értékű fehérje felépítéséhez szükséges építőelemek (aminosav pool) minőségi és mennyiségi szempontból optimális szinten tartása.

A fehérjeszintézishez szükséges aminosavak előállítására a természetben előforduló, úgynevezett vad törzsek képesek. Ez a bioszintézis a citoplazmában — a szénhidrát anyagcsere köztes termékeit hasznosítva — nem csekély energia befektetésével, illetve anyagfelhasználással, szigorúan szabályozott körülmények között folyik.

### A KÖZPONTI SZEREPET BETÖLTŐ AMINOSAVAK SZABÁLYOZÁS NÉLKÜL KÉPZŐDNEK



Az aminosav készlet optimális minőségi és mennyiségi összetételét a bioszintézis első reakcióját katalizáló enzimekre ható visszacsatoló (feed-back) mechanizmus szabályozza, szükség szerint gátolva vagy serkentve azok működését. Ezzel finoman képes szabályozni a metabolitként felhasználásra kerülő aminosavak koncentrációját, megakadályozni azok túlermelődését. A fehérjeszintézis biztonságát szolgálja a szabályozást finomító második rendszer (attenuátor) működése, amely a feltöltött tRNS mennyiségének függvényében, kellő pontossággal engedélyezi a bioszintézisben érdekelt gének átírását (lásd 2.6.1.6. fejezet). A végtermék hiányában, a represszor eltávolításával (derepresszió) a mikroba a struktúrgének átírásának engedélyezésével a bioszintézisben résztvevő enzimek mennyiségét a szükségletnek megfelelő mértékre növelheti.

Az aminosavak képződése a köztes anyagcsere meghatározott területeihez kapcsolódik. Így a Krebs-ciklushoz közvetlenül a glutaminsav és az aszparaginsav képződése, áttételesen a lizin, a treonin, a metionin, a valin, az izoleucin, a leucin, az ornitin, az arginin, a citrullin, a prolin, az aszparagin és a glutamin szintézise kapcsolódik.

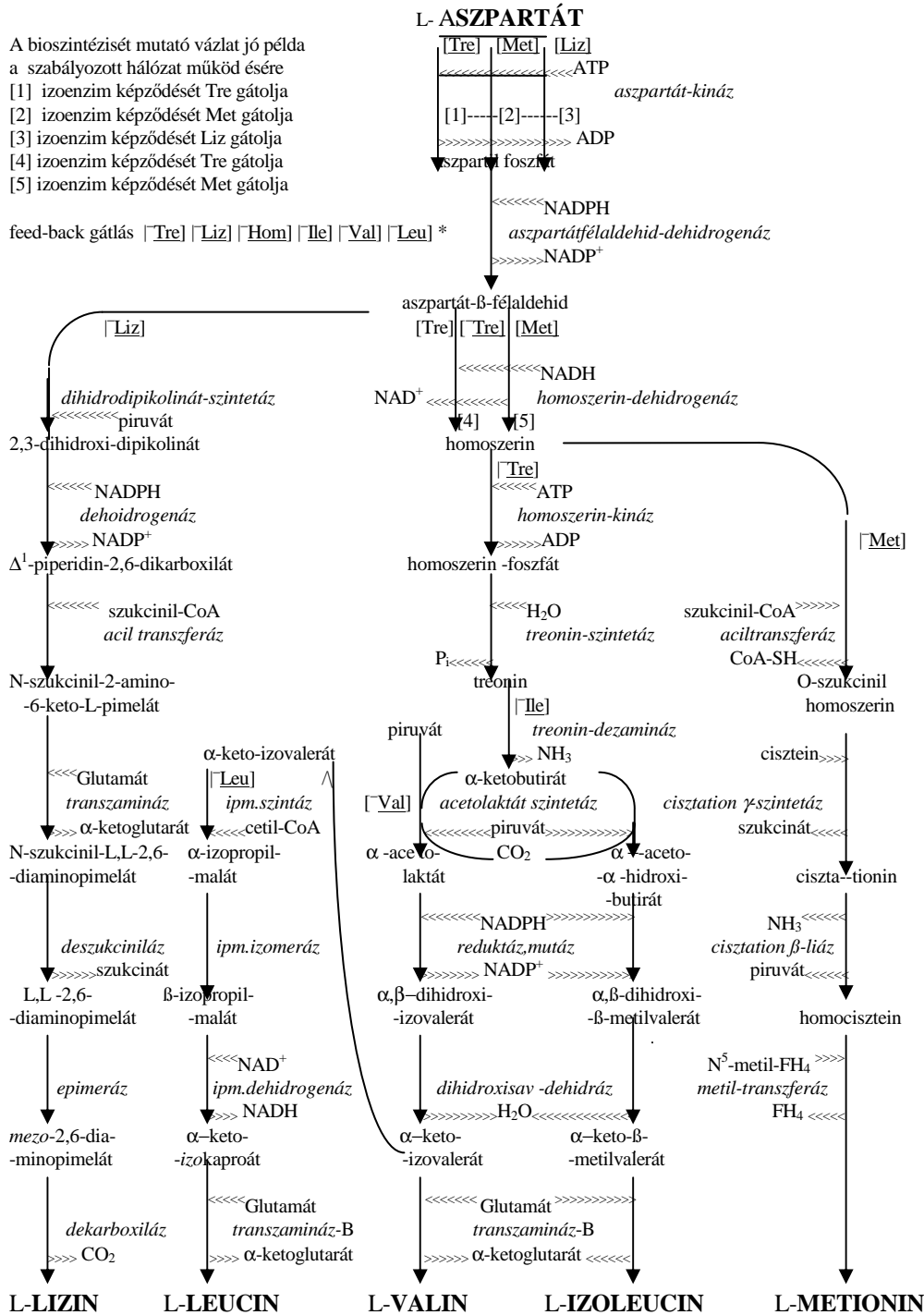
Az aszparagin-savból hat esszenciális aminosav képződik. A bonyolult elágazó rendszer enzimek szinten, de a transzkripció szintjén is finoman szabályozott formában, izoenzimekkel, illetve az elágazó szénláncú aminosavak esetében közös enzimekkel bonyolított hálózat működtetésével oldja meg feladatát. A metionin két izoenzim az aszpartát-kináz és a homoszerin-dehidrogenáz képződését szabályozza. Másik aszpartát-kináz izoenzim szintézisét a lizin nem csak represszálja, de alloszterikusan is képes szabályozni.

### ASZPARAGIN SAVBÓL INDULÓ AMINOSAVAK BIOSZINTÉZISÉT MUTATÓ VÁZLAT (*E. coli*)

A bioszintézisét mutató vázlat jó példa a szabályozott hálózat működésére

- [1] izoenzim képződését Tre gátolja
- [2] izoenzim képződését Met gátolja
- [3] izoenzim képződését Liz gátolja
- [4] izoenzim képződését Tre gátolja
- [5] izoenzim képződését Met gátolja

feed-back gátlás [Tre] [Liz] [Hom] [Ile] [Val] [Leu] \*

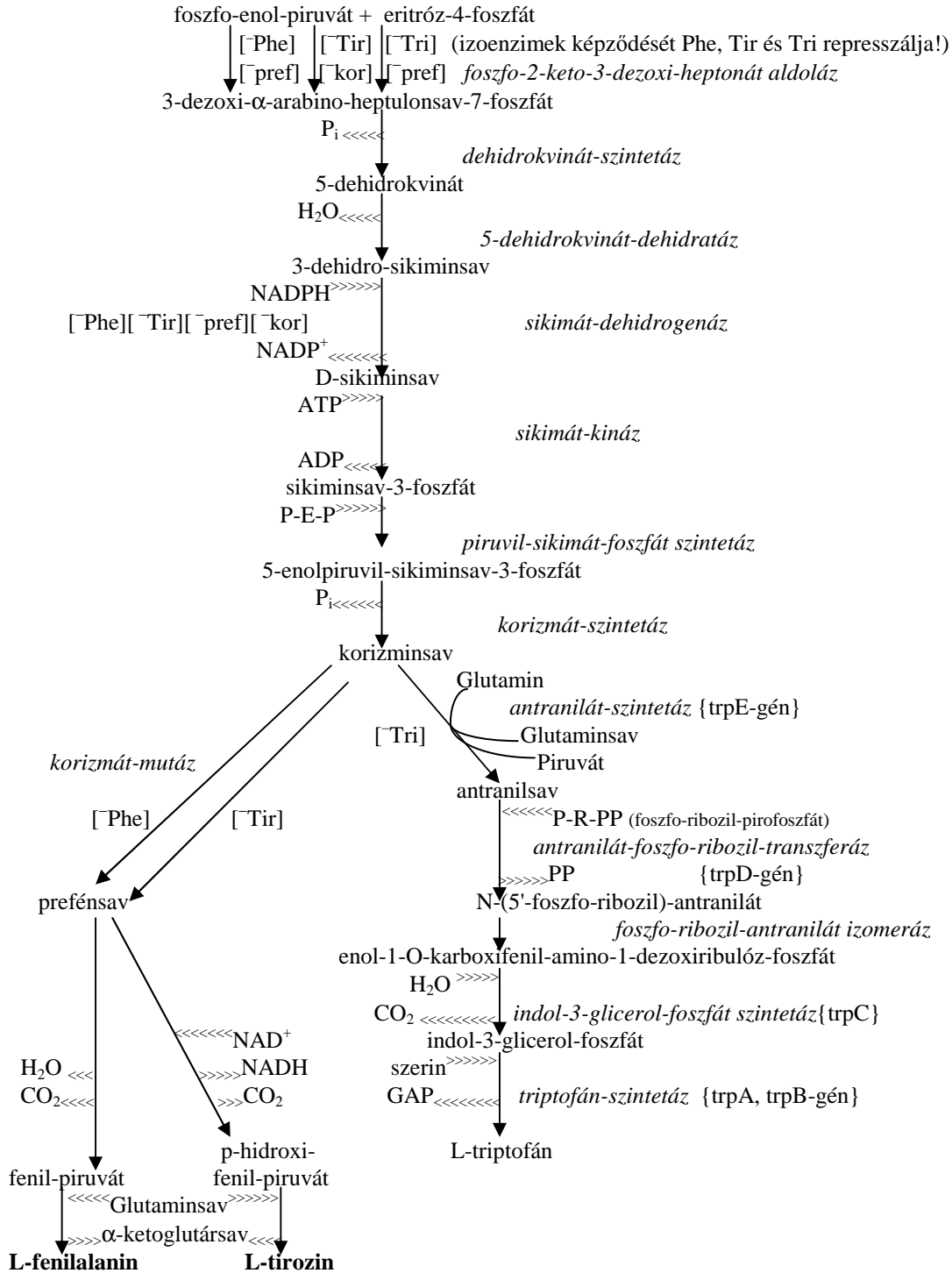


\*[alloszterikus gátló XXX hatás jelölése]

A treonin két izoenzim képződését (*aszpartát-kináz*, *homoszerin-dehidrogenáz*) szabályozza, de szükség esetén alloszterikusan is gátolja mindkettő működését. A finomabb szabályozás érdekében ez utóbbi aszpartát-kináz izoenzimnek az aktivitását a homoszerin is befolyásolja. A derepressziót mindegyik aminosav esetében az attenuátor szabályozás finomítja. Ez a mechanizmus végső soron csak az esetben engedélyezi a bioszintézisben érdekelt

enzimek struktúgénjeinek átírását, ha az életműködés szempontjából nélkülözhetetlen fehérje szintézise igényli azt. Az aszparaginsav a reverzibilisen működő *glutaminsav-oxálcetsav-transzamináz* segítségével képződik a szükséges mennyiségben. Nem véletlen, hogy a glutaminsav — amely az ammónia felvételben kulshelyzetben van — fordul elő legnagyobb mennyiségben a mikroorganizmusok sejtmentes kivonatában. A légkörből megkötött nitrogén a glutamin és a glutaminsav közvetítésével jut a nitrogén anyagcsere hálózatába. A szerin, a cisztein, a glicin és az alanin képződése a glicerinsav-foszfát, illetve a piruvát képződéséhez kötődve, a körfolyamat jellegű működés miatt különösebb szabályozást nem igényel.

### AROMÁS AMINOSAVAK SZABÁLYOZOTT BIOSZINTÉZISE *Escherichia coli*-ban



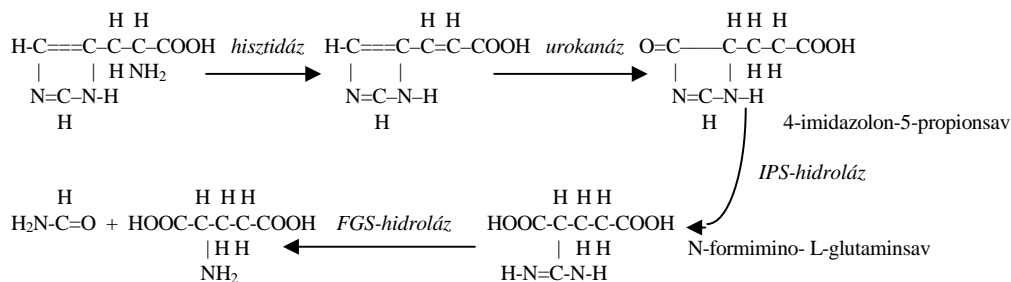
A pentózfoszfát-útból indul A FENILALANIN, A TIROZIN, ÉS A TRIPTOFÁN BIOSZINTÉZISE. Az elágazó rendszer enzim szinten és génszinten izo-enzimek felhasználásával teljesíti feladatát. A bioszintézis egyes köztes termékének a képződése is feed-back szabályozás alatt áll, mert nem csak az esszenciális aromás aminosavak szintézise, de egyes vitaminok (PAB) képződése is innen ágazik ki. A szabályozás finomítása céljával a foszfoenol-



összeadó módon befolyásolják, amelyeknek a bioszintézisében a glutaminszint alakulása meghatározó jelentőségű. Az alloszterikus kötőhely foglaltsága esetén az alegység gátoltságát fokozza annak adenileződése. Az így inaktívuló *glutamin-szintetáz* központi szabályozó szerepet játszik a mikroba nitrogén-anyagcseréjének alakulásában. Az inaktív enzimkomplex gátolja a *nif*-génnek átírását, az aktív komplex viszont éppen serkenti azt.

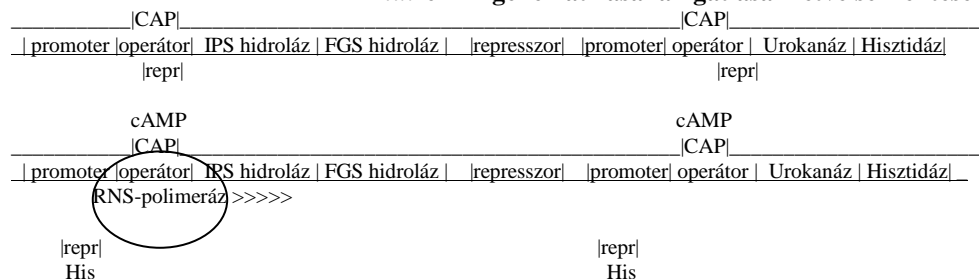
Az aminosavak lebontását katalizáló - sok esetben katabolikusan represszált - enzimrendszerek képződése indukálható. Tevékenységük általában acetyl-CoA formájában őrzi a lebontott vegyületből még hasznosítható építőelemeket. A glutamin, az arginin, a hisztidin és a prolin lebontva értékesebb termékhez vezet, amely glutaminsavon keresztül hasznosulhat. Az optimális hisztidin szint kialakításában a lebontó folyamatok is fontos szerepet kapnak. A lebontást végző négy enzim képződését elindító - az ábrán szereplő két független operátor régióban elhelyezkedő - négy struktúrgén (*hut* enzimek) átírását a represszor fehérjéhez kapcsolódó hisztidin indukálja, de végső soron a belső energiaszint, a katabolikus represszió klasszikus mechanizmusán keresztül serkenti. Ez nem meglepő, hiszen a hisztidin lebontása gazdaságosan hasznosítható ammónia, glutaminsav és formamid képződésével jár.

### A HISZTIDIN LEBOMLÁSA



Alapállásként a folyamatosan képződő hisztidin nélküli represszor fehérje az operátor régióhoz kötődve akadályozza lebontó enzimek struktúrgénjeinek átírását. Hisztidin fölösleg esetében a represszor fehérje (*repr*) hisztidinnel kapcsolódva lemozdul a szabályzó kötőhelyről, és első lépésként engedélyezi a hisztidin lebontást végző enzimek génjeinek átírását. Az átírás azonban csak a katabolikus represszió energia és N hiány okozta felfüggesztésekor indul. A citoplazmában megnövekvő cAMP szint hatására az energia hiányt megjelenítő cAMP/CAP komplex aktiválja az átírás folyamatát

### A *hut*-enzimének átírásának gátlása illetve serkentése



A mikroba növekedése szempontjából előnyös optimális építőelem-készletet a citoplazmában folyó bioszintézis és a lebontó-aktivitás finoman szabályozott egyensúlya alakítja. Az egyensúlyra azért is szükség van, mert a gazdaságos életvitel érdekében a citoplazmában található peptidázok mindazokat a fehérjéket lebontják, amelyek hibásan készülve működésképtelenek vagy pedig jelenlétük az életműködés szempontjából az adott fejlődési fázisban már szükségtelen. A így nyert építőelemek más irányban kerülnek felhasználásra.

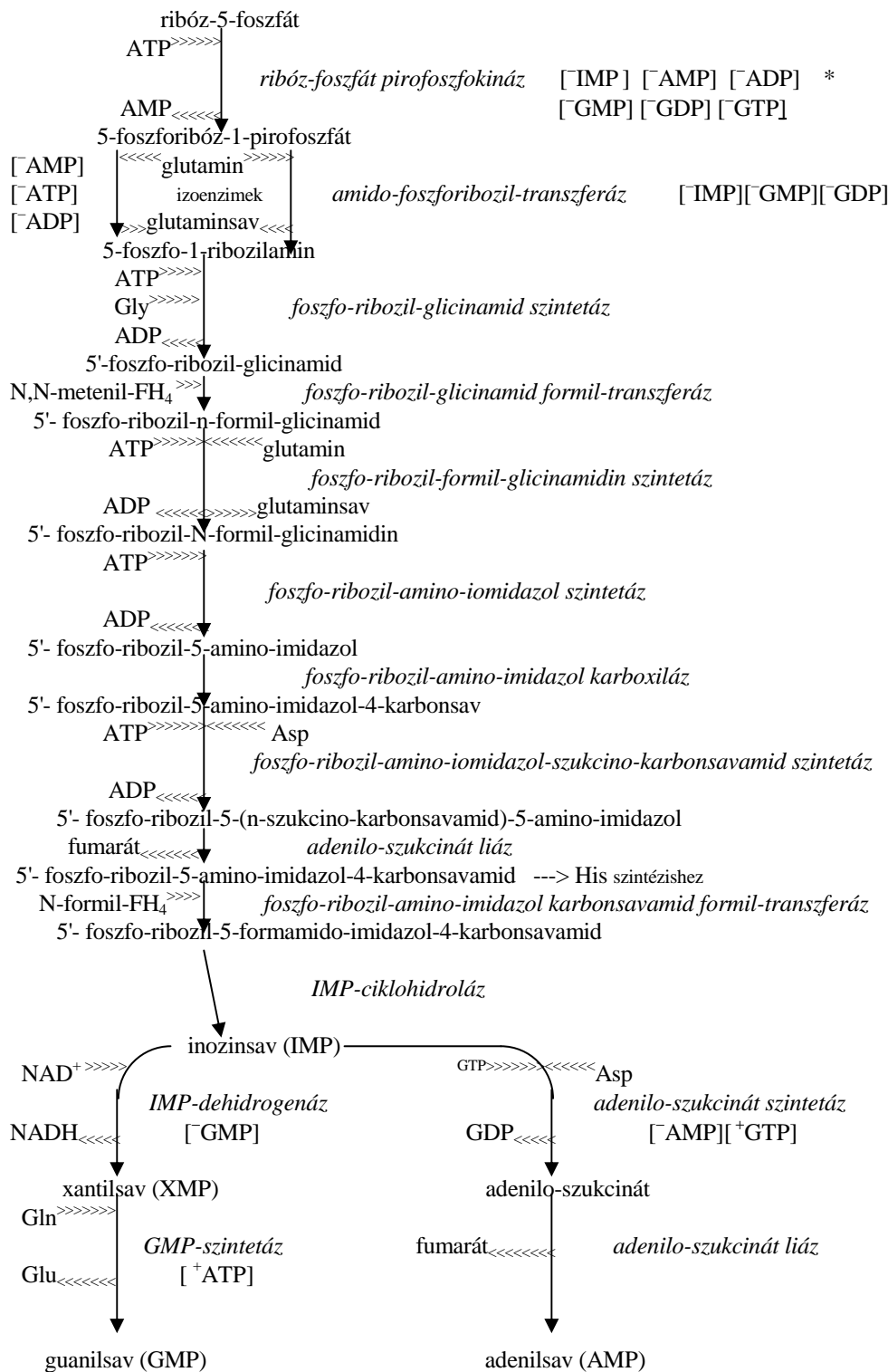
Az optimális aminosav szint fenntartására szolgáló komplex rendszer elemei az élő sejtben:

- 1, a környezetből történő aminosav felvétel transzportmechanizmusa,
- 2, attenuáltan szabályozott, represszáható bioszintézisért felelős enzimállomány,
- 3, alloszterikusan ellenőrzött bioszintézis (feed-back),
- 4, derepresszáható, katabolikusan represszált lebontó rendszer (C és N hiány).

A bioszintézisben nélkülözhetetlen enzimek sérülése vagy elvesztése a mikroba aminosav igényeként jelentkezik. Ezek a hiánymutánsok (auxotróf törzsek) jól használhatók a mikrobiális genetikai munkákban. A szabályozási mechanizmust érintő genetikai beavatkozással, bizonyos enzimek működésének akadályozásával vagy éppen bizonyos utak serkentésével gazdaságosan használható mutánsok nyerhetők egy-egy aminosav, például glutaminsav, lizin, fenilalanin, triptofán, treonin, izoleucin ipari előállítására.

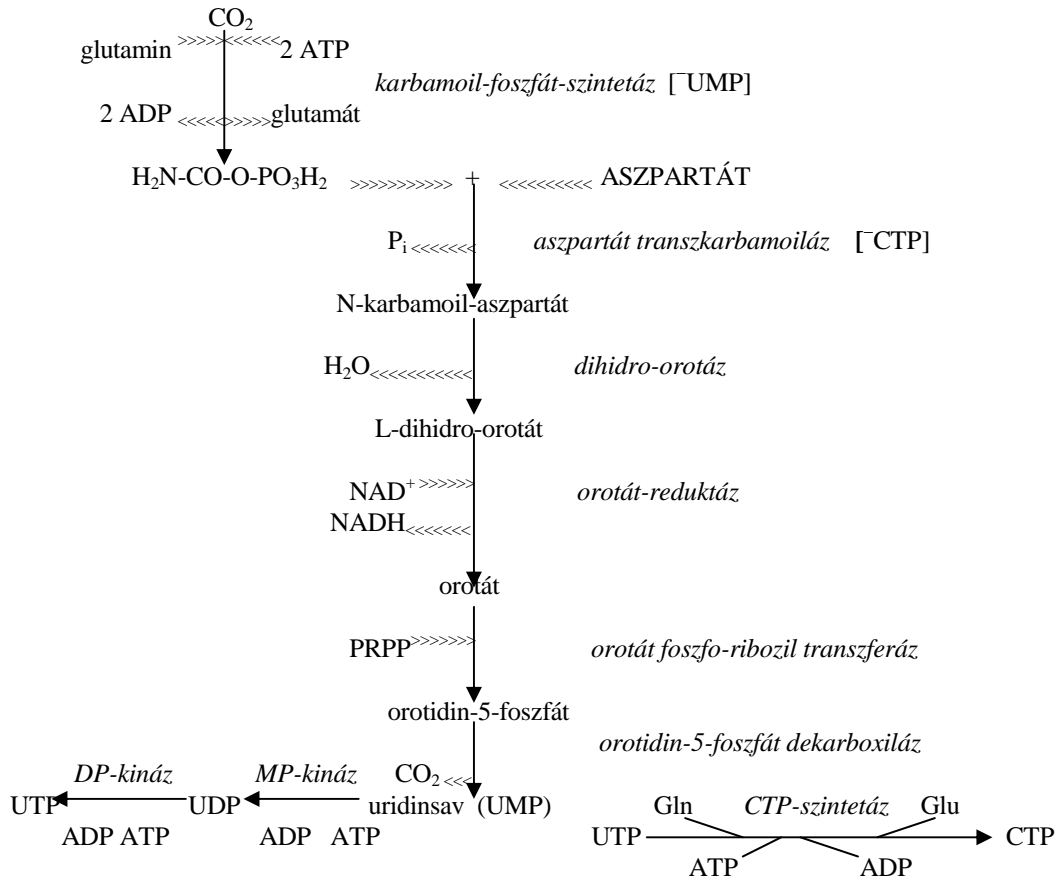
A **PURIN- ÉS PIRIMIDINBÁZISOK ELŐÁLLÍTÁSA** a nitrogén anyagcsere keretében finoman szabályozott körülmények között folyik a citoplazmában. A DNS- és az RNS-bioszintézishez szükséges bázisok nem csak a makromolekulák építőelemeiként szerepelnek, de fontos szerepet játszanak az energiaképzésben és -raktározásban résztvevő nukleotidok, NAD, FAD, GTP. képződésében is. — A purinbázisok képződésénél az egyensúlyt az alloszterikus gátló- és serkentőhatás egyidejű jelenléte hivatott biztosítani. Nevezetesen az adeniloszukcinát képződését az AMP gátolja, míg a GTP serkenti; a xantilát guanilsavvá alakulását viszont az ATP segíti.

### A PURIN-NUKLEOTIDOK BIOSZINTÉZISE ÉS A SZABÁLYOZÁSI MECHANIZMUSA



\*[alloszterikus gátló -XXX vagy serkentő +XXX hatás jelölése]

## A PIRIMIDIN-NUKLEOTIDOK KÉPZŐDÉSE



A pirimidin-bázisok képződése céljából az aszparaginsav karbamoil-foszfáttal kondenzálva karbamoil-aszpartáton keresztül egy molekula víz kilépésével alakul dihidroorotsavvá. NAD-függő dehidrogénezés után foszforibozil-pirofoszfáttal reagálva egy dekarboxilezési reakcióval képződik az uridilsav (UMP). A nukleozid-monofoszfátból nukleozid-trifoszfát két egymást követő transzfoszforilálással (*N-monofoszfát-kináz*, *N-difoszfát-kináz*) képződik ATP felhasználásával. A másik pirimidin-bázis képződését ( $\text{C}^4$ ) ammónia felvételével a *CTP-szintetáz* katalizálja UTP-ből az ATP energiatartalmát hasznosítva. A karbamoil-foszfát glutaminból, szén-dioxidból ATP felhasználásával képződik. Ennek a szintetáznak a teljesítményét alloszterikusan az uridilsav szabályozza. Az aszpartát transzkarbamoiláz aktivitását viszont a citidin-trifoszfát gátolja. Ezt a gátlást például az *Escherichia coli* esetében kompetitív módon felfüggeszti az ATP. Ez a szabályozás a purin- és pirimidinbázisok képződésében egyensúlyt biztosít. A dezoxiribonukleozidok a megfelelő nukleozid-trifoszfátokból képződnek. Redukáló ágensként dihidroliponsav, illetve tioredoxin- vagy glutaredoxin-reduktáz rendszer jöhet számításba. A reduktáz rendszer elektron-igényét egy NADPH elégíti ki. A DNS-szintézishez szükséges dTTP a dezoxi-uridilsav metilezésével képződik  $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -metilén-tetrahydrofolát segítségével. A folyamathoz 5,6-dimetil-benzimidazol-kobamid koenzim és  $\text{Mg}^{2+}$  szükséges.

## A MIKROSZERVEZET MAGÁLLOMÁNYA

A magállomány kémiai purin- és pirimidinbázisokat, foszforsavat és dezoxiribózt tartalmaz. Ez utóbbi kolorimetriчески meghatározható pentóz csak a sejt örökítő anyagában fordul elő. Oswald már 1930-ban valószínűsítette a DNS genetikai szerepét. Az örökítő anyag jellegét Avery és munkatársai által 1944-ben leírt kísérleti eredményei igazolták. A DNS finomszerkezetének a felderítése James Dewey Watson és Francis Crick érdeme (1953), amit a genetikai kód felfedezése és az információáramlás módjának részletes felderítése követett. Ez a magállomány elektronmikroszkópos felvételeken jól látható, de speciális festési módszerekkel, például bázikus fukszinnal festve fénymikroszkóppal is kimutatható. Nyugvó sejtekben egy-egy festhető képlet, osztódás előtt álló sejtekben két elkülönülőben levő maganyag látható. Ezt a maganyagot baktériumkromoszómaként emlegeti a szakzsargon. Ma már elfogadott, hogy a kromoszómán kívül több-kevesebb extrakromoszómális elem, plazmid is létezik a mikroszervezetekben. Ezek egy része beépülhet a kromoszómába (3.5.1.4. fejezet). A baktériumkromoszóma kémiai két, egymással komplement szerkezetű fonalas molekula szoros asszociátuma, amelynek savanyú jellegét a külső felületen elhelyezkedő poliaminok közömbösítik. A kettős hélix a lehető legtömörebb, szupercsavart állapotban helyezkedik el a citoplazmában. Ez a fonalas szerkezetű maganyag a sejttér fogat egytizedét foglalja el, szárazanyagban azonban mindössze 2-3 %-ot teszi ki, elméleti hossza (teljesen kitekeredve) viszont a sejt méretének akár ezerszerese is lehet. Például az *Escherichia coli* kromoszóma  $3 \times 10^9$  Da tömegű (Dalton =  $1,67 \times 10^{-24}$ g),  $5,4 \times 10^6$  nukleotidot tartalmaz és négyszázszor hosszabb (1,5 mm), mint az *E. coli* sejt hossz tengelye. Nyugvó állapotban a DNS szuperfeltekeredett állapotban

A maganyag a sejt fal és a membrán kéméletes eltávolítása után nyúlós anyagként nyerhető ki. A fonalas szerkezetű vegyület molekuláris méretéből következik törekeny szerkezete, mechanikus érzékenysége. Ezért a DNS készítmények általában molekulatördeléket tartalmaznak. A kromoszómafonal két szála közötti kapcsolatot az adenin és a timin, valamint a guanin és a citozin párok között kialakuló hidrogénhidak tartják fenn, amely kapcsolat viszonylag enyhe hőhatásra fellazul. A függetlenné váló két szál a hőmérséklet óvatos csökkentésével újra összekapcsolódik, mégpedig arra a termodinamikailag legstabilabb változat megjelenítésére törekedve, amikor minden bázis megtalálja a párját. Ez a folyamat végeredményben egydimenziós kristályosodásnak tekinthető. Gyors hűtéssel ez a folyamat akadályozható. A DNS-molekula fizikai állapotára következtethetünk a hődenaturálás közben mért ultraibolyafény-elnyelés változásából. A duplaspirál állapot megszűnése a fényelnyelés ugrásszerű növekedését (40 %-os emelkedés) eredményezi. Egyszálú DNS esetén ez az érték nem változik

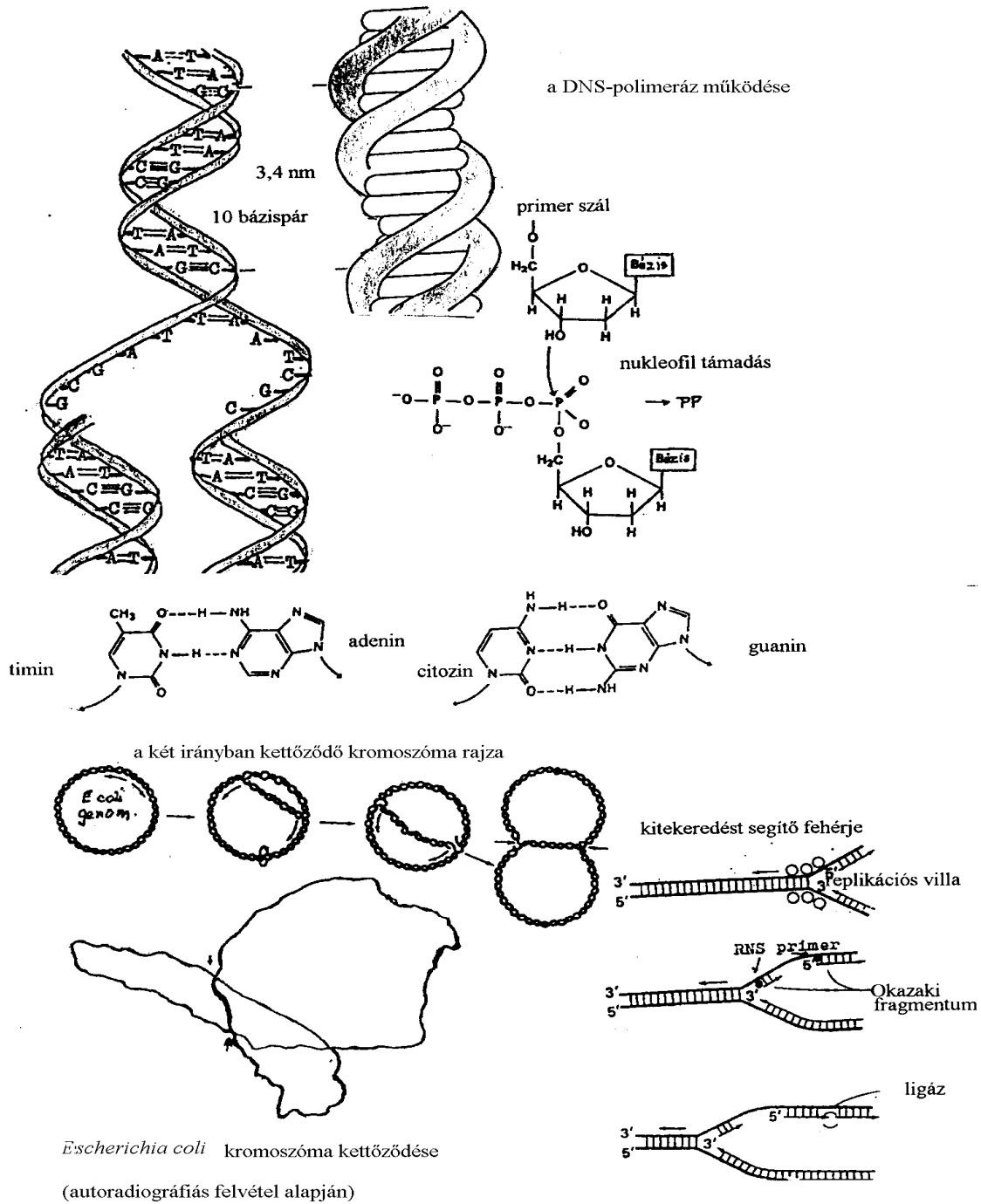
A DNS olvadási hőmérsékletének nevezzük azt a hőmérsékletet, amikor az UV-elnyelés növekedése eléri a maximális érték 50 %-át. Ez az érték a bázispárok fajra jellemző minőségétől és mennyiségétől függ. A G/C pár hármas hidrogénhidjának lazulása magasabb hőmérsékleten következik be, mint a két hidrogénhíddal rögzített A/T páré. A genotípust meghatározó DNS a mikroorganizmusok rendszertani csoportosításában, összehasonlításában nagy segítséget jelent. A renaturálódási készséget használja ki a DNS hibridizációs technika. A referencia nukleinsavhoz keverik az összehasonlítandó nukleinsavból készült, célszerűen izotóppal jelzett fragmentumokat. A denaturált keveréket 0,3 M konyhasó oldatban  $65^\circ\text{C}$ -on tartva kialakul a hibridkeverék, amely asszociálódva gradiens centrifugálással frakcionálható. A radioaktivitás és az UV-elnyelés mértéke az analógiáról, adott esetben a rokonság mértékéről tájékoztat. Ezen az úton DNS/RNS hibridek is előállíthatók. Az élő sejtben (replikáció közben) egy speciális fehérje segíti a termodinamikailag stabil asszociátum kialakulását, megakadályozva az egyszálú DNS idő előtti összezapódását. A T-4 bakteriofágban ennek a fehérjének a génjét is sikerült megtalálni.

A sejten belül feleslegessé vált nukleinsavakat nukleázok bontják építőelemekké. A felszabaduló nukleotidok új nukleinsav képződéséhez használnak fel vagy pedig a lebontó enzimek távolítják el a sejtől. A nem működő mRNS eltávolítása megakadályozza a felesleges fehérjék képződését. A nem működő riboszómák eltávolítása, a felesleges enzimek lebontása megakadályozza szükségtelen vegyületek spontán képződését, az energia értelmetlen pazarlását.

Ez a finoman szabályozott állandó fehérje- és nukleinsav lebontó aktivitás segíti elő a leggazdaságosabb életműködést. A létező folytatott küzdelemben a szabályozó rendszer egy-egy apróbb hibája már hátrányos helyzetet jelent, kihűléshez vezet. Tudománytörténeti érdekesség, hogy a ribonukleáz volt az első enzim, amelynek teljes szintézisét 1969-ben elvégezték.

A prokariota kromoszóma RNS-sel stabilizált, többszörösen felteker (szupercsavart) állapota a replikáció megindulásakor, annak első lépéseként fellazul, kitekeredik. Ez a folyamat speciális destabilizáló fehérjék segítségével folyik. A két szál szétválását segítő fehérjék a replikáció ideje alatt folyamatosan mintegy kétezer bázispárnyi területet biztosítanak az új DNS-fonalat szintetizáló enzimek működéséhez. A DNS-polimeráz III zavartalanul tudja felépíteni a megfelelő dezoxiribonukleotid-trifoszfátok felhasználásával 5'-3' irányban az egyik szál komplementer fonalát. A másik szál szintézise bonyolultabb, mert ott elméletileg 3'-5' irányban kellene történni a szintézisnek, ilyen enzimet azonban nem találtak. Itt a szintézis az RNS-primáz által elhelyezett primer RNS darabokból indul 5'-3' irányban az előző RNS primerdarabig. A rövid DNS-darabok között maradó RNS-fragmentumokat ezután folyamatosan a DNS-polimeráz I cseréli a komplementernek megfelelő nukleotidokra.

## A DNS MEGKETTŐZŐDÉSÉNEK A VÁZLATA



A DNS-polimeráz működése Sanger módszerét alkalmazva lehetőséget ad a DNS bázissorozatának felderítésére (szekvenálásra). Ha a reakció elegybe a négy (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) dezoxiribonukleotid-trifoszfát mellé valamelyik bázis 2',3"-dideoxi-nukleotid-trifoszfátját (ddNTP) adják, akkor ez a bázis — beépülve a láncba — a láncnövekedést leállítja. A beépült dideoxinukleotid ugyanis képtelen a következő foszfodiészter kötés kialakítására. Sanger kísérleti reakcióelegye tehát tartalmazza; a szekvenálandó DNS-darabot, egy radioaktívan jelölt olyan (primer) DNS darabot, amely a vizsgálandó DNS végével komplementer, a dezoxiribonukleotid-trifoszfátokat és meghatározott arányban valamelyik nukleotid dideoxi-analogját (ddNTP). A polimeráz hozzáadásakor a meglévő primert folytatva elindul a komplementer szintézise. Amikor egy ddNTP beépül, a lánc növekedése megáll. A képződő lánc hossza attól függ, hogy milyen messze van a DNS végétől az a bázis, amelynek a helyére a dideoxi származék beépült. Párhuzamosan természetesen mind a négy ddNTP-vel meg kell csinálni a kísérletet. A láncdarabok elegyét akrilamid-gélen futtatva a méret szerinti sorrendbe rendeződő fragmentumok a radioaktív

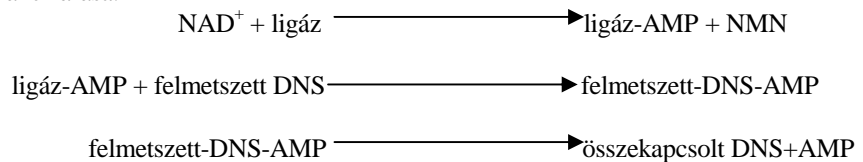
jelölésnek köszönhetően láthatóvá tehető. Kellő számú kísérleti adatból a DNS-szál bázissorrendje, illetve ebből a kódolt fehérje aminosav sorrendje nagy biztonsággal megállapítható.

Az *in vivo* DNS replikációs folyamat igen bonyolult mechanokémiai jelenség. Egyetlen 4,5 millió bázispárt tartalmazó *Escherichia coli* kromoszóma kettős spirál szerkezete közel félmillió csavarodást jelent, nem beszélve a szupercsavart állapot többszörös feltekeredtségéről. Ez azt jelenti, hogy 30 perces osztódási ciklust feltételezve percnként legalább 13.000 fordulatot végeznek a szálak. *In vitro* ezt a sebességet nem lehet elérni. A tisztított DNS-polimeráz percnként 1000 nukleotid beépítésére képes. Ezzel szemben egyetlen osztódási ciklushoz szükséges két kromoszóma elkészítéséhez 2 x 4,5 millió bázispár kialakítása szükséges, amely percnként 350.000 nukleotid beépítést jelent. Nem kétséges, hogy replikáció közben a DNS-szálak számtalanszor elszakadnak, amit a javító mechanizmus menetközben újra összekapcsol. A replikáció közben előforduló hibák javításában fontos szerepet tölt be a polimeráz I. A DNS bioszintetizáló és hibajavító mechanizmusa ugyanis nem törődik a DNS-szál információ tartalmával. Teljes aktivitását az eredeti szöveg hibátlan másolására, illetve e másolatok változatlan formában való fenntartására fordítja.

Külön enzimek szolgálnak a kettős szálú DNS feldarabolására. Ezek a **restriktív endonukleázok** csupán meghatározott szekvencia mellett hasítanak. A DNS a hasítás helyén palindrómát alkot, azaz ugyanaz a szekvencia olvasható az ellenkező irányban is.



Ennek az a következménye, hogy a hasított szál komplementer végződésű (ragadós végű), amelynek összeillesztését az adenilsavval acilezett **ligáz** végzi.— Az adenilsav a ligáz lizin oldalláncának ε-aminocsoportját acilezi, miközben nikotinamid-mononukleotid (NMN) szabadul fel. A nagyenergiájú foszfoamid-kötés segíti a bemetszett DNS 5'-végéhez kötni az adenilsavat. A kialakuló pirofoszfát-kötést éri a láncvégi 3'-hidroxicsoport nukleofil támadása, aminek a végeredménye a DNS lánc zárása.



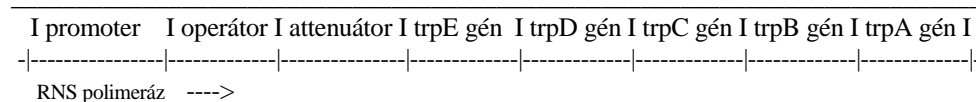
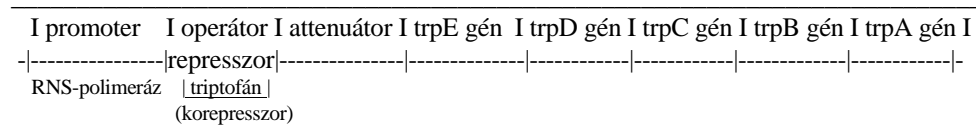
A restriktív enzimek és a ligáz kombinált használata egy adott DNS-darabhoz tetszőleges tartalmú, komplementer végződésű idegen DNS hozzáépítését, mesterséges gének előállítását teszi lehetővé. — A DNS-replikáció bonyolult folyamata könnyen megzavarható kémiai és fizikai beavatkozással. Az úgynevezett citosztatikus hatású antibiotikumok, amelyek a DNS-lánchoz kötődve zavarják a replikációt a rákkemoterápiában kerülnek felhasználásra. Mások, például a bleomicin a DNS-lánc kémiai hasításával zavarják a sejtek osztódását. Ismeretesek olyan vegyületek, amelyek a replikációs folyamat enzimeinek a működését zavarva fejtik ki antibakteriális hatásukat. A novobiocin, vagy a kinolonkarbonsavak például a giráz működését gátolva a szuperfeltekeredett DNS fellazulását zavarják.

Nukleinsavak az élő szervezetből különleges kémia szerkezetük miatt viszonylag könnyen, szelektíven nyerhetők. Dodecilsulfát nátriumsójjával, vagy vízzel telített fenollal a sejt fehérjetartalmú alkotórészeitől könnyen elválasztható, sőt az alkalmazott technológia optimalálásával az RNS, illetve a DNS célzott kinyerése is megvalósítható. A mikroba DNS-tartalma szigorúan állandó. Az RNS tartalom azonban, amely a riboszómák nukleinsav alkotórészét (rRNS), a transzfer ribonukleinsavat (tRNS) és a hírvívó ribonukleinsav (mRNS) tartalmat foglalja magába, a szükségletnek megfelelően periodikusan változik. A nukleinsav-készítmény lúgos kezelésével az RNS frakció hidrolizálható, miközben a DNS érintetlen marad. A DNS kémiai stabilitása nem csak a cukorkomponens minőségével, de a duplahélix szerkezetének merevségével is magyarázható. — Az RNS és a DNS nemcsak a cukorkomponensben különbözik (ribóz - dezoxiribóz), de a pirimidinbázisok minőségében is eltérnek. Az RNS-ben uracil és citozin, a DNS-ben timin és citozin kapcsolódik a pentóz glikozidos szénatomjához. Bizonyos kémiai átalakulások a nukleinsavak érési folyamata közben is bekövetkezhetnek (6-metil-adenin, 5-metil-citozin, 5-metil-uracil). A legnagyobb különbség azonban a két nukleinsav másodlagos szerkezetében észlelhető, amennyiben a DNS két komplementer szál szoros asszociátuma; az RNS viszont egyetlen ribózfoszfát-kopolimer fonál. Az egyszálú RNS rugalmas szerkezete ugyanis kémiaiilag könnyen támadható, enzimekkel lebontható.— Az egyszálú RNS meglevő komplementáris szakaszai azonban egy másodlagos szerkezet kialakulását teszik lehetővé. Az így kialakuló jellegzetes szerkezet (lásd tRNS), bizonyos fokú stabilitást kölcsönöz a molekulának. Az aminosav-bioszintézisben résztvevő enzimek képződését szabályozó attenuátor mechanizmus működésében az átmeneti bázispárképződésnek fontos szerepe van. A szekvencia bázispárjai jellegzetes stabil másodlagos szerkezet kialakulását segítik.



komplexből részt vesz a következő RNS polimeráz indításában, a promoter régióhoz kötődő RNS-polimeráz pedig tovább haladva végzi a transzkripció folyamatot a mRNS képzését.

A mRNS esetében a kódolt fehérjére vonatkozó, AUG kodonnal induló információ előtt a riboszómához való kötődést biztosító szakasz található. A DNS-szálon akár egy génen belül is egyidejűleg több RNS-polimeráz is működhet, sőt az enzimek folyamatosan letekeredve képződő mRNS-fonalakon körülbelül 40 bázisnyi távolságban már megindul a fehérjeszintézis. Ebből az következik, hogy meglehetősen kis területen változatos biokémiai reakciók (RNS-szintézis, fehérjeszintézis) tömege folyik egyidejűleg. Ezt a lehetőséget használja ki az élő szervezet az aminoacilezett tRNS szabályozó szerepének a megjelenítésére. Ennek keretében a promoter régióhoz kötődő RNS-polimeráz, az operátorhoz kötődő represszor fehérje távoztával elindulhat a struktúrgén felé. Az RNS-polimeráz működése viszont megszakad akkor, ha a megfelelő aminoacil-tRNS a fehérjeszintézis szempontjából szükséges koncentrációban jelen van a mikrobacélban. Ez a szabályozás az egyes aminosavak bioszintézisében szerepet vállaló enzimek energia igényes képződését csak az esetben teszi lehetővé ha egy életfontosságú fehérje képződése valamelyik aminosavval acilezett tRNS hiánya miatt akad meg. Ez a szabályozási folyamatot célszerűen a triptofán bioszintézis enzimeinek képződését szolgáló mRNS átírásának szabályozásán keresztül mutatható be.—Triptofán hiány esetében a korepresszor (esetünkben triptofán) nélküli represszor fehérje lemozdul az operátorról. Ennek következtében elindulhat az RNS-polimeráz a struktúrgén felé,



|represszor|

Struktúrgének:

E = *antranilát-szintetáz*

D = *antranilát-transzferáz*

C = *IGP-transzferáz*

B = *triptofán-szintetáz B*

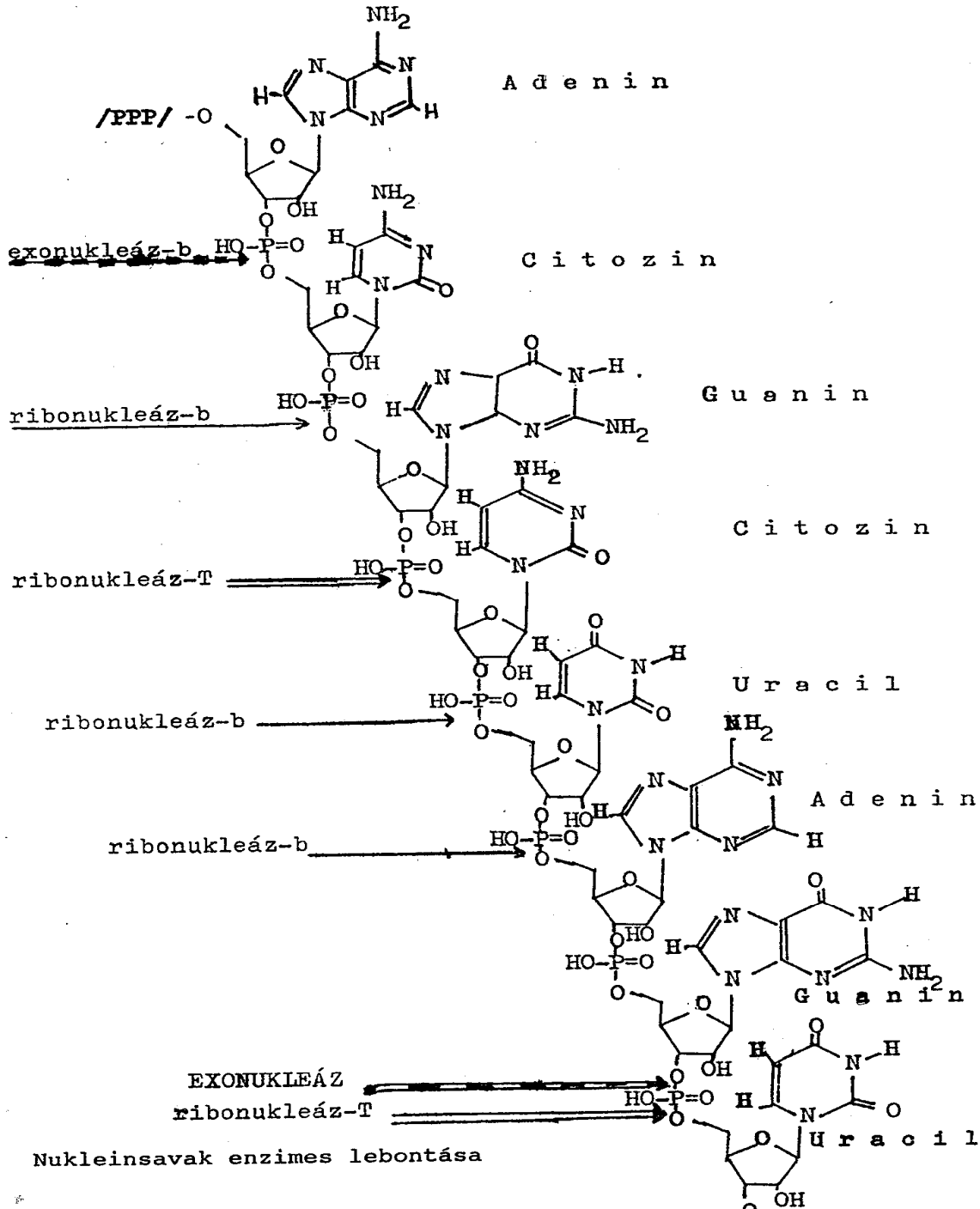
A = *triptofán-szintetáz A*

elkezdődik a transzkripció folyamat. A képződő RNS szálon hamarosan megindul a transláció folyamat is. Elkezdődik a struktúrgén információja előtt elhelyezkedő attenuátor szakaszon kódolt rövid vezérfehérje szintézise. A vezérpeptid információja a promoter régiót követő rövid riboszómakötő szakasz után, a szokásos AUG kodonnal kezdődik és UGA kóddal végződik. Az RNS-polimeráz által szintetizált mRNS-láncon, amelynek szekvenciája több komplementer szakaszt is tartalmaz, a polimeráz 40 bázisnyira követve folyik a vezérfehérje képződése. A két szintézis (az RNS- és a peptidszintézis) közel azonos sebességgel folyik. A vezérpeptidtől 30 bázis távolságra, jóval a struktúrgénetet iniciáló kodon előtt található az a termináló hurok, amely képes lenyomni a  $\sigma$ -faktor nélküli, lazán kötődő polimeráz a templátjáról. A termináló hurok azonban, csak az esetben alakulhat ki, ha a vezérpeptid szintézise zavartalanul megtörténik. Ilyenkor az RNS-polimeráz leválik az operonról és  $\sigma$ -faktoral kiegészülve újra kezdi működését a promoter szakasznál. Az anyagvesztés csekély, mert a jelenlevő proteázok és nukleázok a funkció nélküli vezérpeptidet illetve a képződött ribonukleinsav fonalat lebontják, és az építőelemek az aminosavak illetve a nukleotidok visszakérülnek a bioszintetikus folyamatba. — Triptofán esetében ez a vezérpeptid mindössze 14 aminosavból épül fel, de szekvenciájában közvetlenül egymás után két triptofánt tartalmaz, amely százalékos arányban különösen nagy gyakoriságot jelent, mivel a prokariotákban általában 100 aminosavra esik egy triptofán. — Ha azonban triptofánnal töltött tRNS hiányában megakad a vezérfehérje képződése, akkor a vezérszekvencia bázissorrendjében levő komplementer szakaszok által létrejött új párkapcsolat nem engedi kialakulni a termináló hurkot. Ennek következményeként a polimeráz a kritikus szakaszon tovább haladhat a struktúrgén kezdő kodonja felé. Hamarosan megkezdődik az illetékes aminosav képződését katalizáló enzimek, ez esetben a triptofán-operonba szerveződött struktúrgén átírását, a mRNS szintézisét. Amikor a végtermék által (feed-back) szabályozott, triptofánt szintetizáló rendszer aktív tevékenysége a vezérpeptid szintéziséhez elegendő triptofán-tRNS szintet állít be, a struktúrgén további átírása megszűnik.

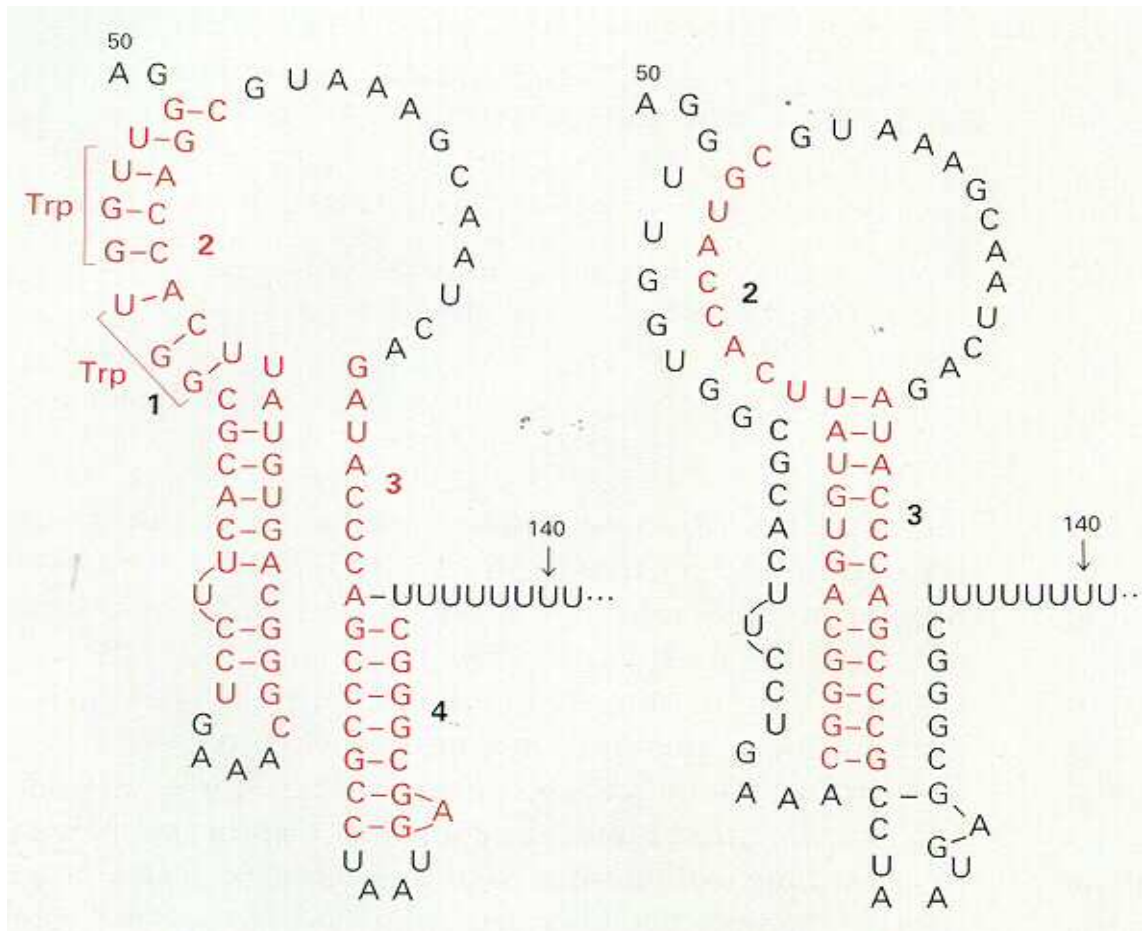
Az átmenetileg szétváló szakaszt befedő,  $\sigma$ -faktor nélküli polimeráz másodpercenként kb. 50 bázisnyi sebességgel halad előre az általában 6-8 egymásután elhelyezett AT bázispárt tartalmazó stop jelig. Néhány esetben más termináló jel létét is észlelték, amely bizonyos palindrom szakaszokat felismerő  $\rho$ -faktor jelenlétében fejti ki hatását. Az átírás a DNS-replikáció már ismert elvét követi. A komplementer szál ribonukleotid-trifoszfát építőelemekből készül azzal a különbséggel, hogy az RNS timin helyett uracilt tartalmaz az adenin komplementer

párjaként. Bázispárképzésre lehetőséget adó kiegészítő szekvenciák a mRNS szálon is előfordulnak, különösen a szál végén a termináló kód környékén. Ez lehetőséget ad az RNS visszahajló szakaszának a megkötésére, megvédve a ribonukleázok lebontó aktivitásától. A lebontó aktivitás egyébként olyan jelentős, hogy nem létezik szabad RNS bioszintetikus funkció nélkül.

#### RIBO-NUKLEINSAV LEBONTÁSÁBAN SZEREPET VÁLLALÓ FONTOSABB ENZIMEK



A ribonukleázok lebontó aktivitásával szemben a riboszómához kötődés is védelmet jelent. A DNS-ről történő átíráskor a különböző RNS-fajták esetében általában a végső cél szempontjából látszólag szükségtelen szekvenciákat tartalmazó hosszabb, úgynevezett prekursor-RNS láncok képződnek. Ebből érési folyamat közben alakulnak ki a biológiai feladat megoldására alkalmas molekulák. A tRNS-gén is lényegesen hosszabb pre-tRNS molekulát kódol. Előfordul, hogy különböző aminosavra specifikus tRNS (például a szerin-tRNS és a treonin-tRNS) egy gén termékeként jelenik meg és bonyolult érési folyamatban, endonukleázok és exonukleázok közreműködésével, egyes bázisok módosításával válik használhatóvá a DNS-ről készült RNS másolat. A bázisok távozásával szabadul fel az aminosavak kötésére szolgáló C-C-A szekvencia.



Az ábra az elkészült mRNS nukleotid sorrendjét mutatja a kritikus szakaszra irányítva figyelmünket.

A baloldali esetben a vezérpeptid szintézise a triptofánt hordozó tRNS hiánya miatt megakad ezért az RNSpolimeráz zavartalanul halad tovább és megkezdji a struktúrgének átírását. —

Az ábra jobboldali része a vezérpeptid zavartalan képződését mutatja amikor a komplement szekvenciák átrendeződése miatt az RNSpolimeráz felfüggeszti működését.

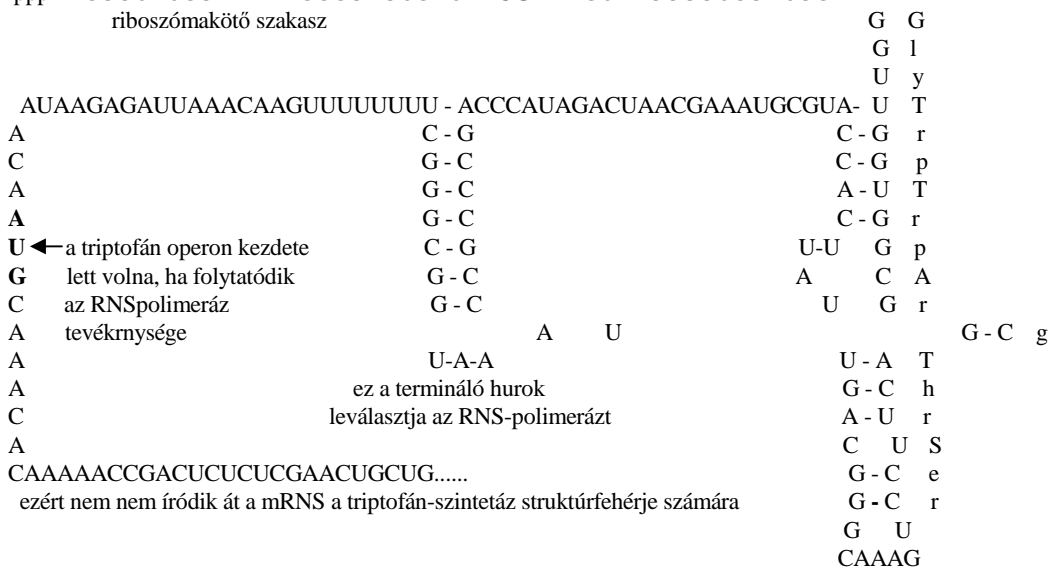
### A triptofán operon átírását befolyásoló attenuátor régió szabályozó szerepe

a vezérpeptid zavartalan képződésekor

Met Lys Ala Ile Phe Val Leu Lys

pppAAGUUCACGUAAAAAGGGUAUCGACAAUGAAAGCAAUUUCGUACUGAAA

riboszómakötő szakasz



Met Lys Ala Ile Phe Val Leu Lys Gly

pppAAGUUCACGUAAAAAGGGUAUCGACAAUGAAAGCAAUUUUCGUACUGAAAGGU  
 riboszómakötő szakasz

	ACGAAAUGCGU	U
	A	G
	A	G
	UCAGA - UUCACC	U
	U - A	G
Trp-tRNS hiány miatt a vezérpeptid képződése az UGG kódnál leáll, a polimeráz a termináló hurok átrendeződése miatt zavaratosan halad tovább és átírja a struktúrgén információtartalmát	A - U	G
	C - G	C
	C U	G
	C - G	C
	A A	A
	G - C	C
	C - G	U
	C - G	U
	C - G	C

AAUAAGAGAUUAAACAAGUUUUUUUCGGGCGAGUAAUCCG - C--A--A--A--G--U-C

C  
A

A Met Gln Thr ....  
**AUGCAAACACAAAAACCGACUCUCUCGAACUGCUG.....**  
 amelyről később a triptofán-szintetáz bioszintézise indul.....

Hasonló szabályozó rendszer irányítja a többi aminosav szintézisét katalizáló enzimek struktúrgénjeinek átírását. Az egyes aminosavak bioszintézisét végző enzimek struktúrgénjeinek átírását akadályozó vezérpeptid szerkezete: Triptofán szintézis enzimeinek képződését akadályozó vezérpeptid szerkezete

- Met-Lys-Ala- Ile-Phe-Val-Leu--Lys-Gly-**Trp-Trp**-Arg-Thr-Ser
- Hisztidin szintézis enzimeinek képződését akadályozó vezérpeptid szerkezete
- Met-Thr-Arg-Val-Gln-Phe-Lys-**His-His-His-His-His-His-His**-Pro-Asp
- Fenilalanin szintézis enzimeinek képződését akadályozó vezérpeptid szerkezete
- Met-Lys-His-Ile-Pro-**Phe-Phe-Phe**-Ala-**Phe-Phe-Phe**-Thr-**Phe**-Pro
- Treonin és Isoleucin szintézis enzimeinek képződését akadályozó vezérpeptid szerkezete
- Met-Lys-Arg-Ile-Ser-**Thr-Thr-Ile-Thr-Thr-Thr-Ile-Thr-Ile-Thr-Thr**-Gly-Asn-Gly-Ala-Gly

\*Vastagítva van a szabályozást végző aminosavval acilezett tRNS

Az egyes vezérpeptidek kémiai szerkezetében az illetékes aminosav egymás közelében több példányban szerepel. A hisztidin esetében 7 szomszédos kodon igényel feltöltött hisztidil-tRNS-t. A fenilalanin-szintézis enzimeinek képződését szabályozó vezérfehérje 7 fenilalanil-tRNS jelenlétét igényli az RNS-polimeráz leválasztásához. Figyelemre méltó a treonin és az isoleucin struktúrgénjeinek átírását szabályozó vezérpeptid szerkezete, amely alternáltan 8 treonin és 4 isoleucinal feltöltött tRNS-t igényel. Ez esetben tehát a treonin és az isoleucin szintézist katalizáló enzimek génjeinek átírását csak az izolucinnal, illetve treoninnal töltött tRNS jelenléte akadályozhatja.

A 16S rRNS szekvenciáját az utóbbi időben a törzsek rendszertani azonosításra, a rokonsági fok meghatározására használják. A PCR-eljárás gyakorlatba vételével ez már egyszerű rutin feladat. Az *E. coli* primer felhasználásával a vizsgálandó törzs kromoszomális DNS-állományából könnyen felszaporítható a 16S rRNS-t kódoló DNS-szakasz. Valójában tehát a 16S rDNS szekvenciáját hasonlítjuk össze. Ennek szekvenálása megfelelő számítógépes program alkalmazásával az egyes törzsek közötti különbség számszerűsítését teszi lehetővé. A rRNS érési folyamatában a riboszóma fehérjekomponenseinek is lényeges szerepük van.— A bioszintézis egyik utolsó lépésében alakul ki a riboszóma mRNS és tRNS kötőképessége. Ily módon nem következhet be a mRNS és a tRNS kötődése éretlen riboszómához.

A riboszómális gének több kópiában található a kromoszómán. Az *Escherichia coli* esetében 7 kódoló szakaszt azonosítottak. Átírásukra csak az esetben kerül sor, ha a fehérjeszintézishez elegendő aminosavkészlet rendelkezésre áll. Az osztódó baktériumsejtben általában 25.000 riboszóma található, az éhező sejtben ez az ötszázat sem éri el. (Aminosavhiány esetén szabályozó szerepű ppGpp és ppGppp szaporodik fel.)

A riboszómális RNS-molekulák, a riboszóma kis (30S, 0,9-1 mDa) és nagy alegységének (50S 1,8 mDa) alkotórészei (16S, 600 kDa, 1,5 kb; 5S 40 kDa, 120 b; 23S 1200 kDa, 3 kb) Közös nagy prekursor-molekulaként képződnek és csak később válnak szét. {Ugyanez érvényes az eukariótákban működő riboszómák kis (40S, 1,5 mDa) és nagy alegységére (60S, 3 mDa), alkotórészeire (18S, 2 kb; 5S, 120 b; 5,8S, 160 b; 28S, 5 kb).}

Az átírás mechanizmusát több antibiotikum gátolja. Az ansalancú rifamicin-származék az RNS polimeráz β-láncához kötődve akadályozza az RNS-szintézis megindulását. Az actinomycin-D a DNS-bázispárok közé ékelődve akadályozza a kettős spirál fellazulását, a két szál szétválását, végeredményben az RNS szintézisét. A DNS-replikációt csak nagyobb koncentrációban alkalmazva képes gátolni, mivel a helikáz nagyobb energiával lazítja fel a dupla spirál bázispárjait, mint az RNS-polimeráz.



viszont sejtenként 15-25 ezer fordul elő. A sejt RNS-tartalmának zöme (90 %-a) itt található, amely az intenzív növekedés szakaszában a szárazsúly negyven százalékát is elérheti.

**A transzláció lépései** a következők: iniciáció, elongáció, termináció.

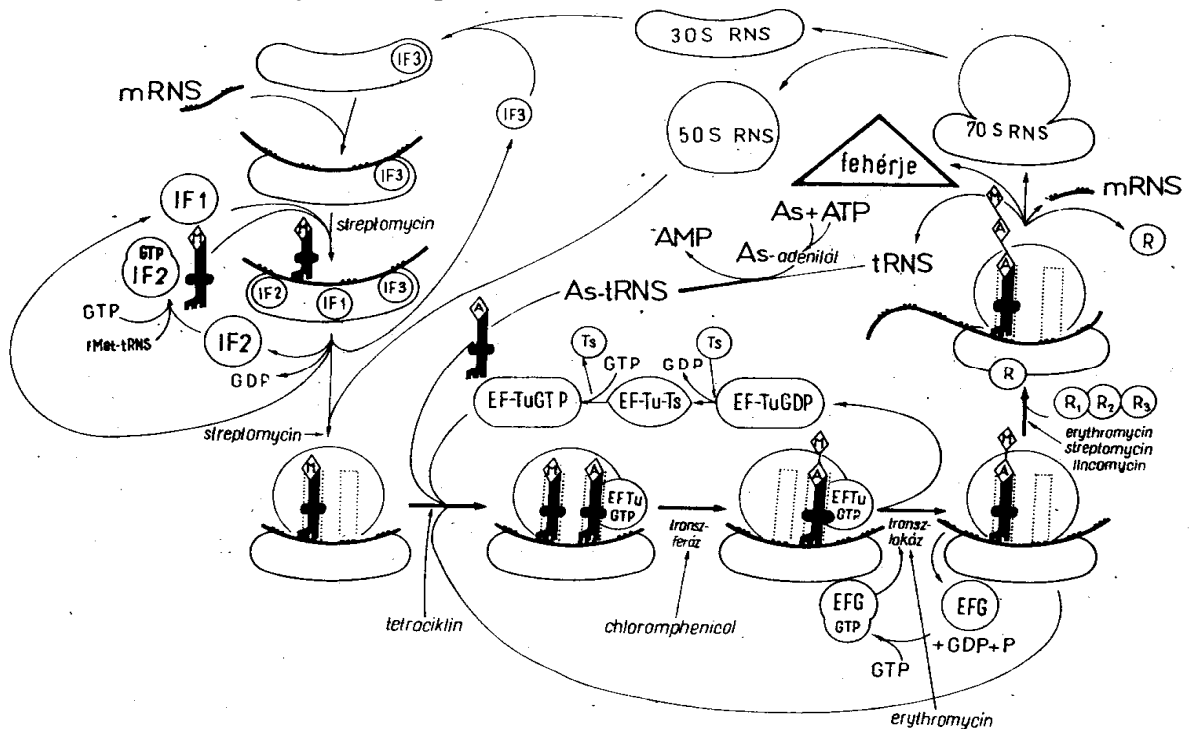
Az iniciáció szakaszában áll össze a fehérjeszintézist végző komplex. A riboszómán a mRNS riboszóma kötőhelyével kompatibilis templát jelenléte irányítja az mRNS-30S riboszóma komplex kialakulását, amit egy 21 kDa tömegű IF-3, egy 9 kDa méretű IF-1 és egy 65 kDa tömegű formilmetionin-tRNS, +GTP, +IF-2 komplex (iniciációs faktorok) bekötődése tesz lehetővé. Az iniciációs komplex kialakulásának a lépéseit zavarják az aminoglikozid antibiotikumok, például a streptomycin. Az így kialakuló komplex kapcsolódik az 50S alegységgel, létrehozva a működőképes 70S riboszómát, miközben az előbbi iniciálós fehérjék (IF-1, IF-2 és IF-3) szabaddá válva újabb komplex kialakításában működnek közre.

A következő lépés az úgynevezett elongációs szakasz, a peptidlánc hosszabítása. Az aminosavkötő helyhez kapcsolódik a következő triplet által meghatározott aminosavval acilezett tRNS. A kapcsolódáshoz szükséges energiát az elongációs faktornak nevezett EF-Tu-GTP fehérje komplex szolgáltatja. A peptid kötés kialakulását az 50S alegység egyik fehérjemolekulája, a transzferáz segíti elő. Ennek az enzimnek a működését gátolja a chloramphenicol (klorocid). A tRNS 3' végén levő ribóz 3'-OH-hoz észterkötésben rögzített aminosav aminos csoportja nukleofílen támadja a peptidkötőhelyen levő aminosavészter karbonil csoportját. A kiürülő tRNS egyidejűleg elhagyja a peptidkötőhelyet.

A kémiai reakciót mechanikus lépés, a transzlokáció követi. Ezt a lépést gátolja a makrolid antibiotikum csoport, például az erythromycin. Ez a mechanokémiai reakció a másik elongációs faktor, az EF-G-GTP komplexben levő energia felhasználásával a növekedő peptidet a riboszóma peptidkötő helyére emeli át. Ezzel lehetővé válik egy újabb tRNS kapcsolódása.

A peptidláncnövelő körfolyamat, az elongáció és a transzlokáció mindaddig ismétlődik, amíg a mRNS termináló kodonja kerül a riboszóma aminosavkötő helyéhez. A befejező szakaszban a termináló kódnak megfelelően valamelyik R-faktor (release) kötődik a komplexhez. Az R-faktor kötődését követően a peptidil-transzferáz hidrolizálja az utolsó tRNS és a kész peptid közötti észterkötést. Ezzel szabaddá válik a kész fehérje, miközben újra felhasználásra alkalmas alegységeire (30S, 50S) esik szét a riboszómakomplex. Az aminoglikozid antibiotikumok az R-faktor kötődését akadályozva gátolják a riboszóma szétválását és ezáltal a fehérjeszintézist.

**Riboszómális fehérjeszintézis a prokariótákban (vázlat)**



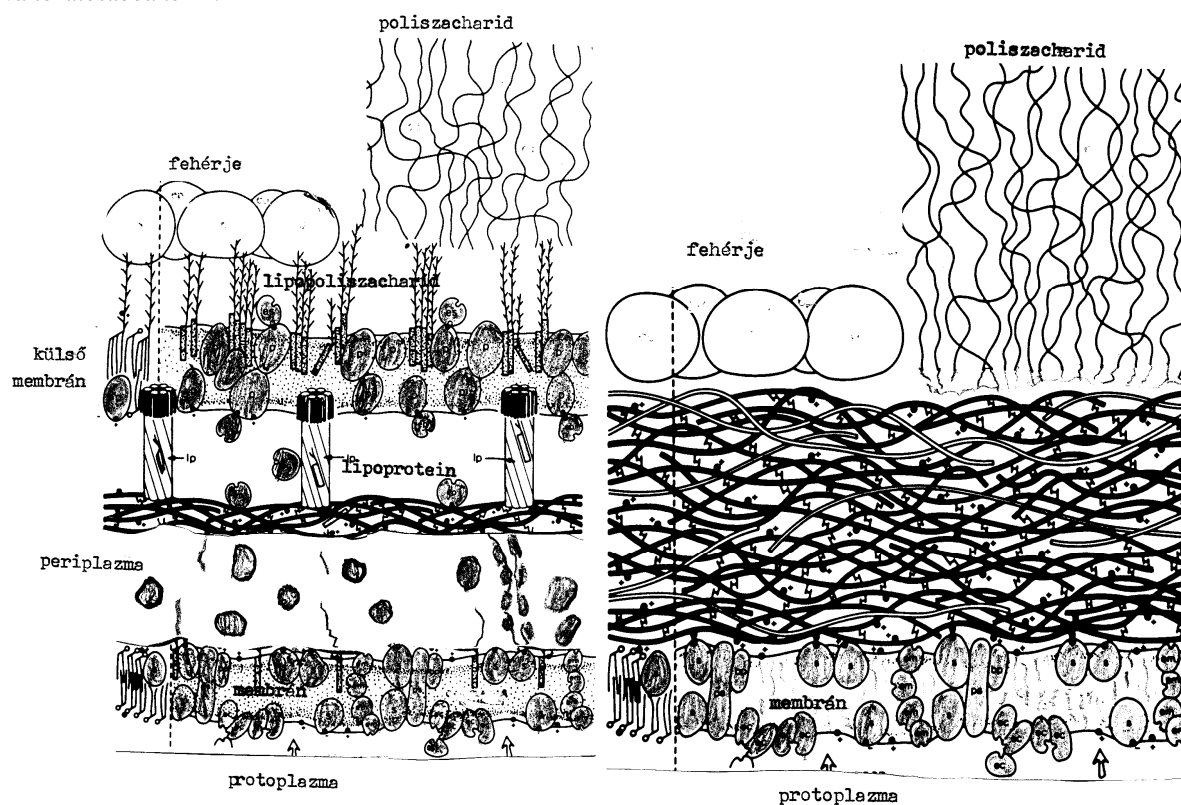
\*Az ábrán jelöltük az antibiotikumokkal zavarható reakciólépéseket

Helyileg a fehérjeszintézis sok esetben a citoplazma membrán belső felületéhez közel, illetve annak belső felületén folyik. A membrán közelsége bizonyos védelmet nyújt a fölösleges fehérjék és nukleinsavak elbontását végző proteázok és nukleázok hidrolitikus hatásával szemben.

## A PROKARIÓTA SEJTBUROK

A mikroorganizmusok anyagcsere rendszerét a sejtburók legfontosabb alkotóeleme, a citoplazma membrán, a sejtthártya határozza el a környezettől, de nem csak elválasztja, hanem egyben össze is köti, mivel az anyagfelvétel és -leadás ugyancsak ezen az elválasztó burkolaton keresztül történik, mégpedig egyrészt passzív, de nagyjából aktív transzport jelenségek eredményeként. A baktérium megjelenési formáját, morfológiai képét, alakját és méretét ugyancsak a sejtburók egy alkotóeleme; a sejtthártyán kívül elhelyezkedő, viszonylag szilárd sejtfal határozza meg.

A baktériumok egy csoportját meghatározó jellegű anatómiai különbségként a sejtfalon kívül egy második, úgynevezett külső membrán választja el a környezetétől. Ennek az élettani szempontból jelentős membránnak a külső felületén különböző, antigénként ismert szénhidrátpolimerek találhatók. Előfordul, hogy a sejtfalon kívül antigén jellegű, változó szerkezetű fehérje molekulák mozaikszerűen elhelyezkedő rétege borítja a prokarióta szervezetet. Jól elkülöníthető csoportot alkotnak a sejtfalon kívül található, zsírsavban gazdag réteggel rendelkező, úgynevezett saválló szervezetek. A sejtburók külső rétegeként sok esetben több-kevesebb kocsonyás természetű fehérje, illetve poliszacharid jellegű anyag található; ha ez tömörebb szerkezetű, akkor toknak nevezzük. A prokariótákat több mint száz éve két nagy csoportba sorolják a biológusok, mégpedig festődésük alapján. A festési eljárást a dán Christian Gram 1884-ben írta le, és azóta a róla elnevezett festési eljárást a mikrobiológusok világszerte alapvető taxonómiai módszernek tekintik. — A tárgylemezre fixált kenetet bázikus kristályibolyával végzett festés után kálium-jodidos jóddal kezelik. A jód a festékmolekulákhoz kötődve olyan mértékben megváltoztatja a színyanyag fizikai tulajdonságát, hogy a festési technológia következő lépésében az acetonnal vagy alkohollal (propanol) végzett mosás a mikrobák egy jelentős csoportjából nem képes eltávolítani a jódkomplexet. Ezeket nevezzük Gram-pozitívan festődő szervezeteknek. A mikrobák másik csoportjából (Gram-negatív) a festék viszonylag könnyen kimosható. Gyakorlati szempontból a festett készítményt célszerű háttér festéssel (pl. szafranin) változatosabbá tenni.



Gram negatíván festődő baktériumsejt burok vázlata

Gram pozitívan festődő baktériumsejt burok vázlata

Közel hetvenöt évig használták a mikrobiológusok ezt a szelektív festési módszert a jelenség molekuláris magyarázata nélkül. Salon úgy vélte, hogy valójában a Gram-pozitív sejtburók permeabilitási viszonyai akadályozzák a festék jódkomplexének eltávolítását. Mai ismereteink szerint a hálózatos szerkezetű, 1 nm pórusméretű sejtfal 10 kDa moltömegig átjárható. Salon és munkatársai a festék megtartását a Gram-pozitív fajokra jellemző, vastag gliukopeptid sejtfal tömörségével okolták meg. Alátámasztotta ezt az elképzelést egyrészt az a megfigyelés, hogy a Gram-pozitív baktériumok idősebb tenyészetek az autolitikus folyamatok előrehaladása miatt Gram-negatívként festődik, másrészt az a tapasztalat, hogy a pozitívan festődő sejtekből a fal részleges enzimes emésztése után a festék-jódkomplex könnyen kimosható.

## A SEJTHÁRTYA (Citoplazmamembrán)

A prokarióta citoplazmát a külvilágtól egy 8-10 nm vastag membrán választja el, amely a mikroba szárazanyag tartalmának 8-15 %-át teszi ki. A sejtburrok kémiai összetételének és szerkezetének a vizsgálata céljából a mikrobasejt egyes alkotórészeit el kell választani. A Gram-pozitív baktériumokból a sejtfal lizozimes emésztése után nyert protoplasztok ozmotikus elroncsolásával vízben nem oldódó frakcióként nyerhető a sejtmembrán. A baktérium összfehérje-tartalmának 20 %-a és a lipid tartalom 70-90 %-a a sejtmembránban található. A sejtthártya 50-60 % fehérjét, 30-40 % lipidet és 15-20 % szénhidrátot tartalmaz. A membránban található fehérjemolekulák fontos élettani szerepet töltenek be. Ezért nem meglepő, hogy a membrán fehérjetartalma a növekedés folyamán változik. Ezek a biológiailag aktív fehérjék saját tengelyük körül forogva, szinte úsznak az állandó mozgásban levő, főleg foszfolipidet tartalmazó, kétrétegű membránban.

A Gram-pozitív baktériumok ozmium-tetroxiddal kezelt ultravékony metszeteinek elektronmikroszkóppal készült felvételein 20-80 nm vastagságú, elektronokat erősen elnyelő, sejtfalnak nevezett külső réteg veszi körül a 7-8 nm vastagságú sejtthártyával körülvevett mikrobasejtet. A 2-3 nm vastag, elektront elnyelő két poláros réteg között 4-5 nm vastag világos sáv látszik. A foszfatid építőelemek alifás zsírsavláncai egymással szemben helyezkedve alkotják ezt a hidrofób réteget. A membrán a fizikai kémiából ismert háromréteges elrendezést mutatja: a középső lipidgazdag rétegen kifelé és befelé egyaránt töltést hordozó csoportok találhatók.

A Gram-negatív sejtek metszetein elektronmikroszkóppal általában három fő réteg különböztethető meg. A belső, 7-8 nm vastag, háromrétegű membrán felett egy vékony, 2-4 nm erősen elektronelnyelő réteg, a sejtfal látható. A felvételeken jól észlelhető a sejtfal két oldalán a belső és külső periplazmának nevezett tér. Ez utóbbit határolja (körülveszi), egy 6-18 nm vastag, a belső citoplazmamembránhoz hasonló háromréteges szerkezet. Ezeknek a rétegeknek a létezését fagyasztott mintából (freeze-etching módszerrel) hasított metszetek elektronmikroszkóppal készült felvételei is megerősítik. — A Gram-negatív sejtek vékony peptidoglükán sejtfala lizozimmal nehezebben ugyan, de eltávolítható. Az így nyert szferoplasztokon azonban a citoplazmamembrán felett a külső membrán is jelen van, sőt a két membrán között sejtfaltörések is kimutathatók. A szferoplaszt lízisével a sejtmembrán és a külső membrán roncsainak a keverékehez jutunk, amit csak sűrűség grádienssel centrifugálva lehet szétválasztani. Újabban sikerrel alkalmazzák a dextrans-polietilén-glikol-foszfatpuffer összetételű, kétfázisú polimer rendszereket a membránfrakciók tisztítására. A két frakciót indokolt külön tárgyalni, mert a citoplazmamembrán és a külső membrán kémiai szerkezetében lényeges különbség fedezhető fel.

Membránszerkezetet nemcsak zsírsavak glicerofoszfat-észterei, digliceridjei hozhatnak létre, hanem hosszú szénláncú alkoholok glicerinnel alkotott étere is hasonló tulajdonságot mutatnak. A természet a törzsféjlődés folyamán ezt az elvi lehetőséget is kipróbálta - feltételezhetően a zsírsav alapon létrejött szerveződést megelőzően - mégpedig oly sikerrel, hogy képviselői ma is megtalálhatók olyan körülményekhez alkalmazkodva, amelyeket az észterszármazékot tartalmazó mikrobák nem képesek elviselni. A Föld őstörténetének egy hosszú periódusában ezek az ősbaktériumok alkothatták az élőlények főtömegét.

Az életkörülmények változásával, a klimatikus viszonyok enyhülésével ezek az organizmusok elvesztették kiváltságos helyzetüket. Az étterszármazékok szintézisének nagy energiaigénye a létért való küzdelemben hátrányos helyzetbe juttatta őket a foszfatidokból felépülő membránnal rendelkező szervezetekkel szemben. A gazdaságosság elvének érvényesülésével olyan élőhelyekre szorultak, ahol előnyük vitathatatlan (hőforrás, iszap, mélytengeri élőhelyek, bécscatorna, mocsár, szennyvíztisztító, stb.).

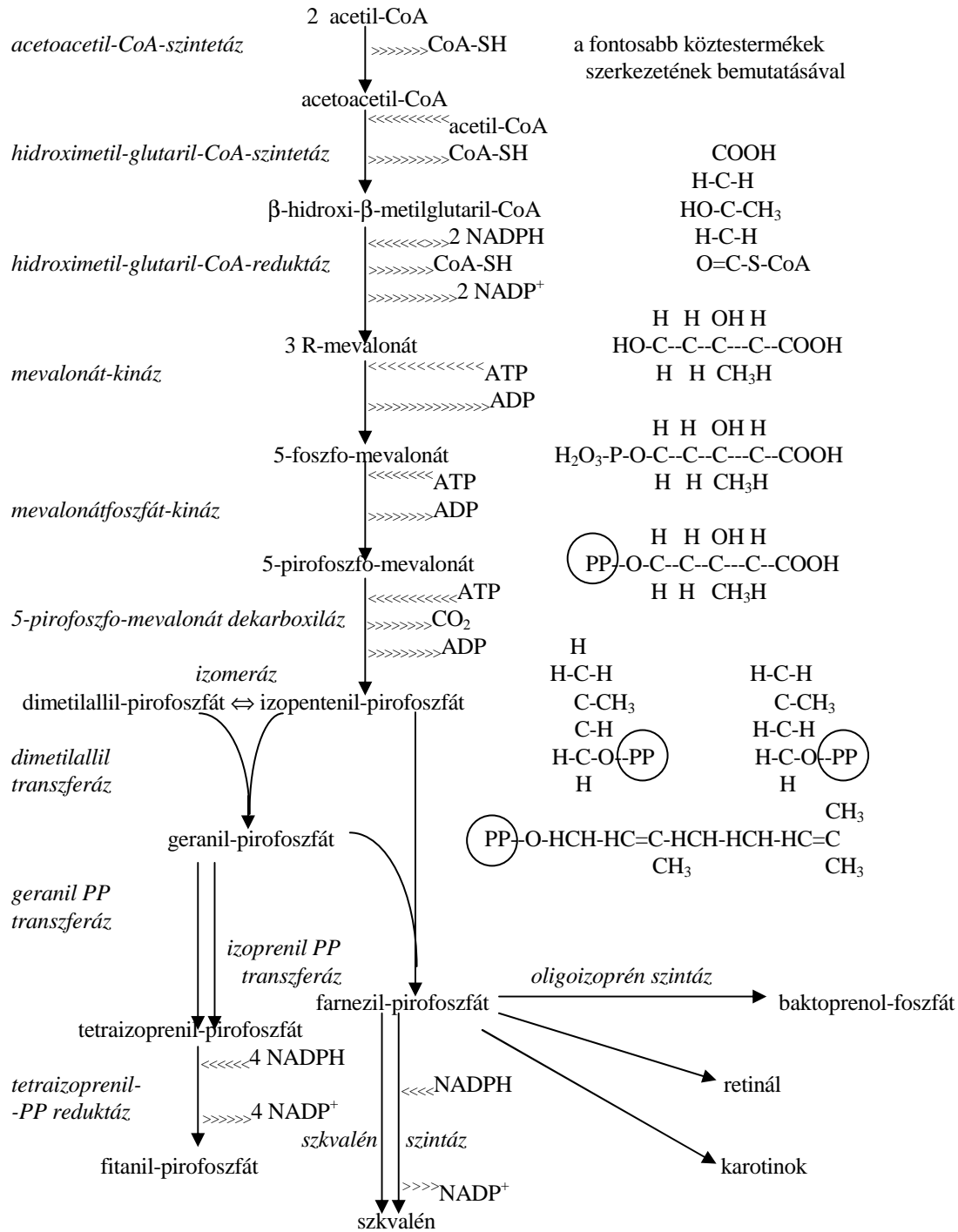
Az izoprén egységekből felépülő életfontosságú vegyületek nem csak az ősbaktériumok esetében - ahol a membrán főtömegét alkotják - de a foszfatidsavból építkező szervezetek esetében is megőrizték élettani fontosságukat, membránba rögzítő ősi alkotórészek - izoprenil származékok - formájában. Gondoljunk csak a különböző baktoprenol- és terpén-származékokra, karotinokra, retinolra, szterinekre, továbbá kofaktorokat rögzítő szerepükre (klorofill, koenzim-Q).

Az ősbaktériumok membránjából izoprén egységekből felépülő telített alkoholok (fitanil) glicerinnel alkotott étereit izolálhatjuk. Egy glicerinnel két fitanillánc kapcsolódik. A glicerinnel harmadik szénatomjához azután polialkoholok, cukorfoszfatok kapcsolódnak szén-szén kötéssel, esetleg elvéve foszfatészterkötéssel. A hőtűrő *Sulfolobus* nemzetségben például a glicerinnel egy hexit kapcsolódik C-C kötéssel és az így létrejövő nonit alkotja a membrán-építőelem poláros fejét.

Vizes közegben - a foszfatidokhoz hasonlóan - ez a lipid is kettősréteget alkot. Az éterkötés stabilitása a nagy sótartalommal, magas hőmérséklettel jellemzett savanyú környezetben is elősegíti a membránszerkezet fennmaradását. Ennek a membrán építőelemnek az a különlegessége, hogy a telített izoprénláncok kovalens kötéssel összekapcsolódhatnak. Ez esetben kétszer négy, azaz összesen nyolc izoprén egységből épül fel az izoprenoid alkohol, a bifitanillánc, amelynek láncvégi hidroxil csoportjai vagy egyetlen glicerinnel vicinális hidroxiljaival alkotnak éterköteket, vagy pedig két glicerinnel lépnek kapcsolatba. Ez a szerkezet jellemző a hőtűrő ősbaktériumokra, amelyekben a láncon belüli ciklopentán gyűrűk fokozzák a membrán stabilitását. Az ősbaktériumok membránjában a szemben levő fitanilláncok egymás mellé csúsztatva, illetve kovalensen összekapcsolódva alkotják a szélsőséges fizikai-kémiai hatásoknak is ellenálló sejtthártyát.

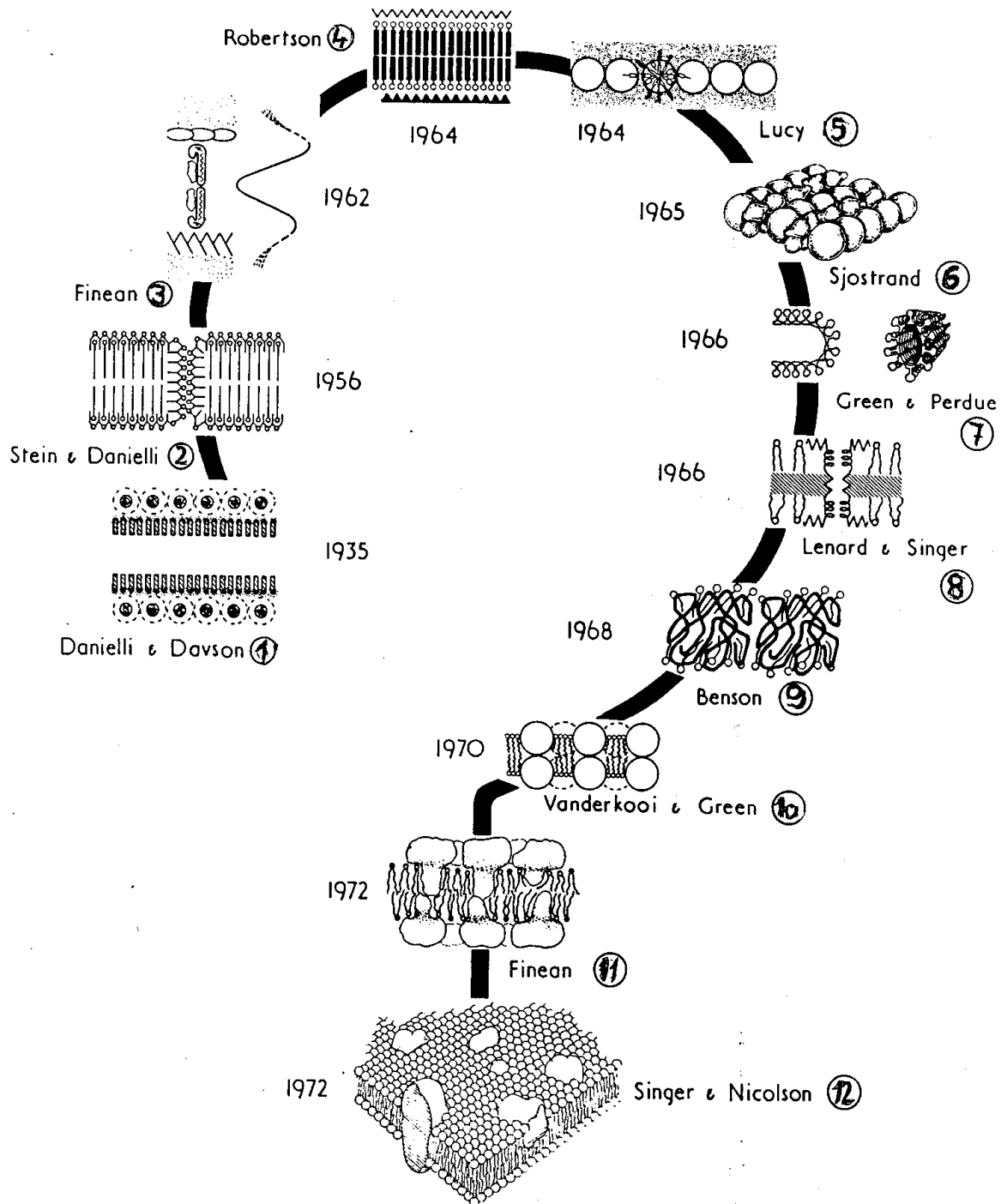
Az izoprenoid alkohol acetil-CoA-ból épül mevalon savon keresztül. Végül dimetilallil és izopentenil építőelemekből képződő geranyl-pirofoszfát köztermék vezet a fitanyl végeredmékhez. A szintézis ATP- és NADPH-igénye nagy. Ez a szintézist az egész élővilág számára nélkülözhetetlen izoprén egységekből felépülő, telített, illetve telítetlen oligomerek képződését szolgálja

### Izoprén-oligomerek bioszintézise



## A CITOPLAZMAMEMBRÁN-MODELLEK FEJLŐDÉSE

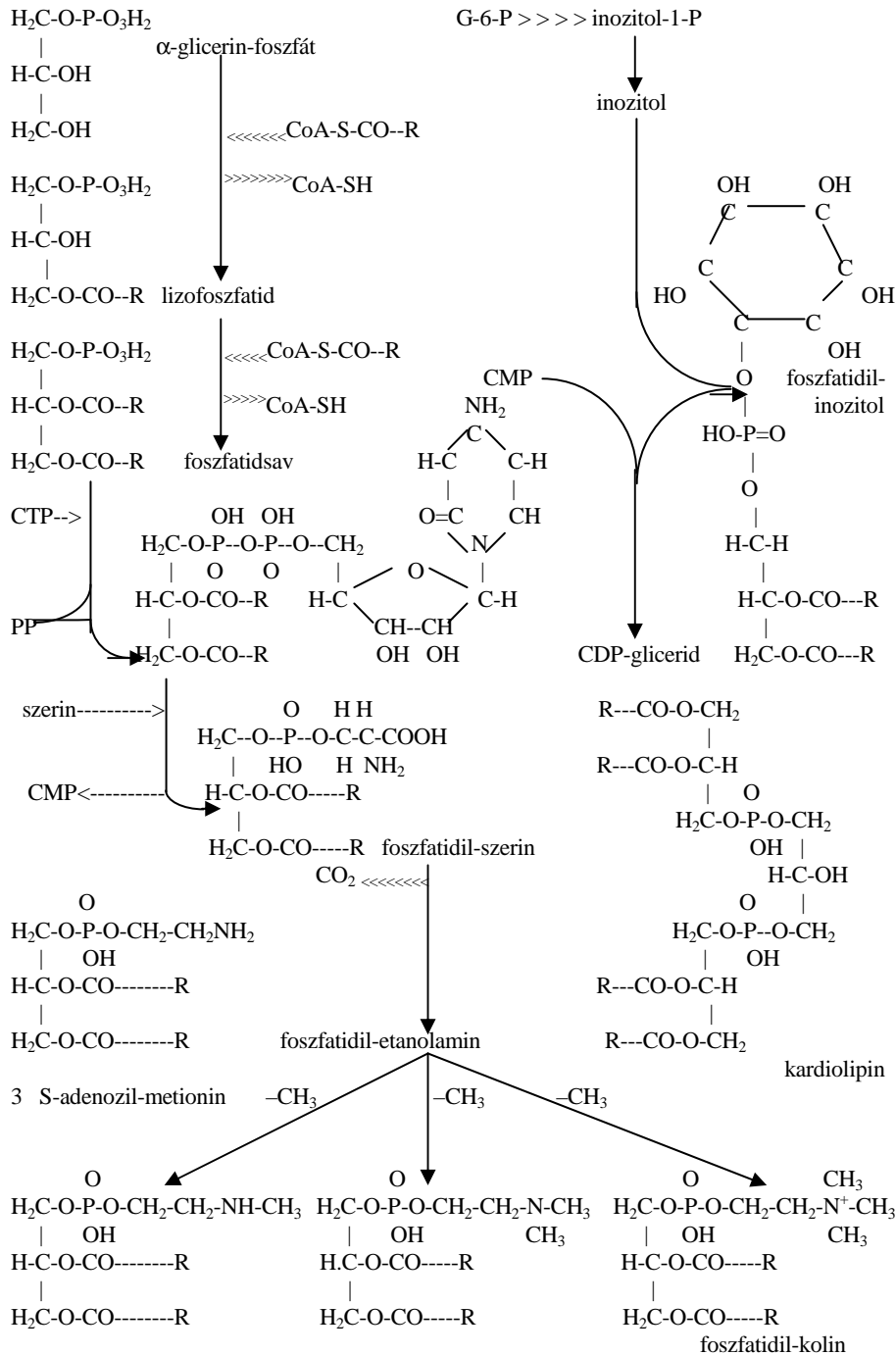
A közvélemény leginkább a membrán Singer és Nicholson által 1972-ben leírt folyékony mozaik modelljét fogadja el. Nem csak tudománytörténeti érdekességű, de tovább gondolásra ösztönöz a membránmodellek fejlődését bemutató ábra, amely szerint a biokémiai módszerek és a technikai berendezések fejlődésével összefüggésben, a leírás egyre jobban közelíti a ma elfogadott elképzelést.



Az eubaktériumokban található kétrétegű membrán olyan kétdimenziós folyadéknak tekinthető, amelyben a foszfatidok zsírsav építőelemei a membrán síkjára merőlegesen helyezkednek el. Képlékeny szerkezete spontán kialakul, ha foszfatidokat megfelelő arányban vízzel összekeverünk. Az építőelemek mozgékonyasága hőmérséklet függő. Magasabb hőmérsékleten a telített zsírsavak mennyiségének a növelése biztosítja a membrán megfelelő folyékonyágát. A hőmérséklet csökkenésekor viszont a telítetlen zsírsavak jelenléte biztosít megfelelő flexibilitást. A membrán fluiditása szempontjából optimális zsírsavösszetétel kialakulásában kulcshelyzetet foglal el az a

tioeszteráz (*glicerín-foszfát aciltranszferáz*), amelyik a lizofoszfátid, illetve a foszfátidsav szintézist katalizálja  $\alpha$ -glicerinfoszfátból és a zsírsav CoA-származékából. Ez az enzim az aktuális hőmérséklet függvényében változtatja a beépítendő telített, illetve telítetlen zsírsavak arányát. Az enzim a szelektáló képességét sejtmentes körülmények között is megtartja; a reakcióelegyben levő zsírsav-CoA-tioeszterek keverékéből az aktuális hőmérsékletnek megfelelően válogat.

### Membránt alkotó foszfatidok képződése



A citoplazmamembrán fizikai-kémiai tulajdonságait erősen befolyásolja az építőelemek poláros csoportjának a szerkezete és a különböző élettani folyamatokat katalizáló fehérjék jelenléte. Az így kialakuló flexibilis képződmény a sejten belüli és a sejten kívüli vizes fázisok szétválasztásával olyan ozmotikus akadályt képez, amely egyrészt visszatartja az élő sejt életfontosságú metabolitjait, másrészt megakadályozza a környezetben jelenlevő anyagok beözönlését a sejtbe. A töltéssel bíró anyagok számára a membrán fizikai-kémiai okokból

gyakorlatilag átjárhatatlan. A glicerinnél nagyobb molekulák ezen az ozmotikus gáton csak speciális transzportmechanizmus segítségével haladhatnak át. Ilyen feladatot látnak el azok a membránfehérjék, amelyek a külső és a belső teret összekötve, lipofil régiójuk segítségével szinte beoldódnak a membrán hidrofób rétegébe. A sejtthártyában működő fehérjék egy csoportja a membrán belső, más részük a külső oldalán a feladataiknak megfelelően, a foszfolipid rétegbe süllyedve helyezkednek el. A membránban található fehérjemolekulák katalitikus aktivitása tartja fenn az élő sejtthártya külső és belső oldala között mérhető membránpotenciált, ami az élet alapjának tekinthető. Az itt működő fehérjék eltérő feladataiból következően a membrán külső és belső oldalának a kémia szerkezete jelentős mértékben különbözik. (Különösen jelentős az eltérés a külső membrán esetében!)

Membránhoz kötött fehérjék az elektrontranszport és az oxidatív foszforiláció enzimei. Ide kötődnek a foszfátid sav képződését katalizáló enzimek, a muramil-peptid és teichoinsav bioszintézisében résztvevő enzimek. A membránhoz kötve találjuk azokat a fehérjéket, amelyek később a periplazmikus térben kezdik meg működésüket. Ezek az enzimek képződési helyüket – a riboszómákat – elhagyva, hidrofób régiójukkal kötődnek a membránba, és adott esetben proteolitikus hatásra, a rögzítő fehérjelánccról leszakadva kerülnek az extracelluláris térbe. A citoplazmamembránban készülnek, illetve itt fejeződik be azon vegyületeknek a szintézise, amelyekből a Gram-negatív baktériumok sejt falon kívül elhelyezkedő rétege, az úgynevezett külső membrán felépül. Membránhoz kötődik a DNS-polimeráz, sőt nagy valószínűséggel a sejt DNS-állománya is kapcsolatban lehet a membránnal.

A citoplazmamembránban működő enzimek általában csak különleges módszerekkel mozdíthatók ki a helyükről. Különböző, nem ionos detergensok, dezoxikolát, dodecil-szulfát, fenol, pufferhatás, hőkezelés, esetleg proteolitikus enzimek alkalmazása vezethet eredményre. A kinyert fehérjefrakció a poláros környezet miatt sok esetben *in vitro* inaktív. A reakcióelegyhez adott foszfolipid hatására azonban az esetek többségében visszatér az aktivitás. A membrán építőelemeinek a képződését a membrán közelében rögzített enzimek katalizálják. Itt képződnek a 14-18 szénatomszámú zsírsavak is. Egyes esetekben a zsírsav különlegesen hosszú is lehet, más esetben hidroxil-csoportot (például mikolsav), esetleg metil-oldalláncot vagy ciklopropán gyűrűt tartalmazhat.

*In vivo* a választék összetétele is szabályozott; amennyiben az alacsonyabb hőmérsékleten fejlődő mikrobában fokozódik a telítetlen zsírsav képződése, a környezet hőmérsékletének az emelése viszont a telített zsírsavak képződésének kedvez. A tápközegben jelenlévő zsírsavak is bővíthetik a választékot. A környezetből felvett zsírsav ugyanúgy CoA származékként van jelen a citoplazmában, mint a saját készítésű zsírsav, amely acil-CoA formájában hagyja el a zsírsav-szintetizáló komplexet.

A membránban jelenlévő telítetlen zsírsavak két úton képződhetnek. Az egyik lehetséges út, ha a bioszintézis egyik körfolyamatánál kimarad a telítési reakció, amikor is transz kettős kötésű zsírsav marad vissza. A másik esetben az elkészült zsírsavat egy külön enzim, a membránban elhelyezkedő deszaturáz dehidrogénezzi, mégpedig térszerkezeti okokból *cisz* helyzetben. A deszaturázaktivitás szintje a membrán fluiditásától függ. Az enzim a hőmérséklet hatására merevedő membránból kiemelkedve lép működésbe a telítetlen zsírsavképződés elősegítése céljából. Amint a membrán fluiditása optimalizálódik ez az enzim visszasüllyedve a membránba beszünteti működését. *Escherichia coli*-ban telítetlen zsírsavként főleg *cisz*-vaccenát (cis-11,12-oktadekanoát) fordul elő a tenyésztési hőmérséklettől függő mennyiségben. A magasabb rendűekben (a növényekben és az állatokban) inkább az olajsav (cis-9,10-oktadekanoát) képződik.

A *cisz* kettős kötés a zsírsavlánc térbeli helyzetét változtatva a membrán fluiditását befolyásolja, de jelentős hatása a membrán flexibilitására a foszfolipid építőelemek fejrészének a mérete és a kémiai szerkezete is. A citoplazmamembránban ugyanis nem a szabad foszfátid sav, hanem annak származékai fordulnak elő. A foszfátid sav citidin-trifoszfát segítségével citidin-difoszfogliceriddé alakul pirofoszfát felszabadulása mellett. A CDP-glicerid azután szerinnel reagálva foszfatidil-szerinné alakul, amiből dekarboxileződve a membrán főkomponense, a foszfatidil-etanolamin képződhet. Ez utóbbi különböző mértékben metilezve végül foszfatidil-kolinná (lecitin) alakul. A CDP-glicerid  $\alpha$ -glicerinfoszfáttal reagálva CMP felszabadulása mellett foszfatidil-glicerin képződéséhez vezet. Ez egy újabb CDP-gliceriddel reagálhat, aminek az eredménye a kardiolipin, (difoszfátidil-glicerin) építőelem képződése. Ugyancsak CDP-gliceridből képződik a foszfatidil-inozit.

A zsírsavlebontás és a zsírsavsintézis egymástól teljesen független folyamatok. Az élő sejtben nem csak térbelileg különül el a két folyamat, de a köztes termékek kémiai szerkezete is különbözik. Amíg a lebontási út L- $\beta$ -hidroxia-cil-CoA intermedieren keresztül, a szintézis D- $\beta$ -hidroxia-cil származékon keresztül folyik. A zsírsavlebontáshoz NAD<sup>+</sup> kofaktor szükséges, bioszintézisekor viszont NADPH kofaktor kerül felhasználásra.

## A ZSÍRSAV-SZINTETÁZ MŰKÖDÉSE

A bioszintézis építő elemének (malonil-CoA) képződését citráttal serkenthető, biotin igényes acil-S-CoA karboxiláz katalizálja, amelynek a működését zsírsavanalógok gátolják. A biotin ATP felhasználásával ADP-szénsav vegyesanhidrid köztes termékén keresztül karboxileződik. A savanyú körülmények között labilis karboxi-biotinil enzimkomplexről kerül a karboxil-csoport az acil-S-CoA reaktív szénatomjára.

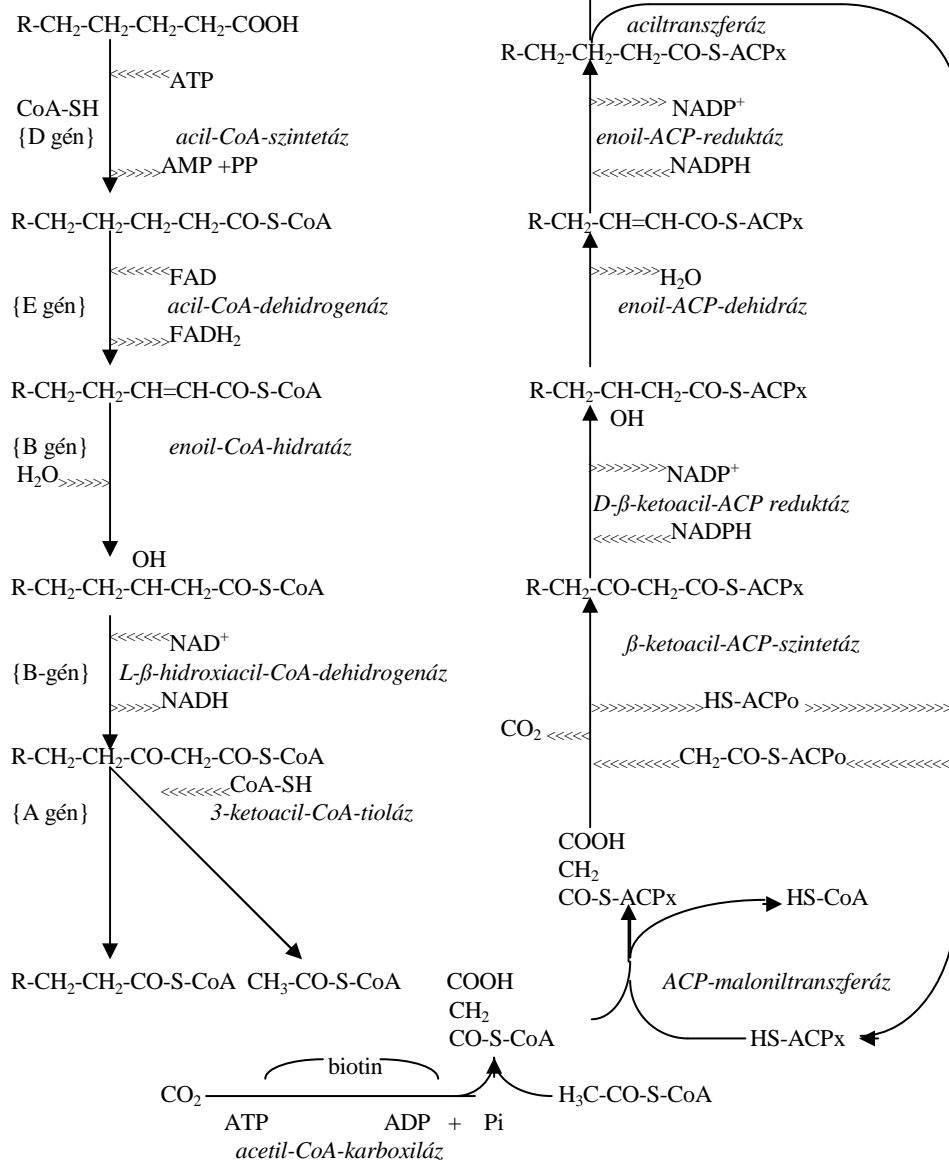
### ZSÍRSAV ANYAGCSERE az *Escherichia coli* K-12-ben

{R-gén} Represszorfehérje

Zsírsavsintézis a savhordozó fehérjén (ACP)

{L-gén} Külsőmembrán transzportfehérje

Zsírsavlebontó komplex (mikroszómában)



\*ACP<sub>o</sub> = Savhordozó fehérje o jelű pantetein oldallánca

\*\*ACP<sub>x</sub> = Savhordozó fehérje x jelű pantetein oldallánca

Ez a reakcióút a mikrobák növekedése és szaporodása szempontjából meghatározó jelentőségű. (Zsírsav nélkül nincs foszfátidsav, foszfátidsav nélkül nincs membrán, membrán nélkül nincs élet.) Ezért nem meglepő, hogy a mikroorganizmusok szaporodásának sebességét növelni lehet a tápközegbe adott biotinnal, és minden esetben kedvezően hat a növekedés megindulására a szén-dioxid parciális nyomásának emelése. A kedvező hatás annak ellenére jelentkezik, hogy nem beszélhetünk a szén-dioxid fogyásáról, hiszen a lánchosszabbításra használt malonil-S-CoA-val való reakcióban a szén-dioxid felszabadul és újra részt vehet a karboxilezési reakcióban. A

pozitív hatás oka talán az, hogy az ADP-szénsav vegyesanhidrid átmeneti képződésének kedvez a szén-dioxid felesleg, amely az élő sejt megjelenésekor környezeti tényező volt.

A zsírsavak a zsírsav-szintetáz enzimkomplex felületén képződnek. A pékélesztőben előforduló, 2300 kDa méretű komplexet tisztán előállították. Ugyancsak sikerült kinyerni az *Escherichia coli* zsírsav szintetizáló komplexének működőképes alkotóelemeit. — A növekvő zsírsavláncot a komplex egyik tagja, a savhordozó fehérje (ACP-acyl carrier protein) tioészter-kötésben tartja, miközben a komplex tagjai forgószínpadszerűen a megfelelő biokémiai átalakításokat elvégzik. Minden körbefordulás két szénatommal növeli a képződő zsírsav hosszát, amint az a zsírsav anyagcsere ábrán tanulmányozható.

Az *Escherichia coli* savhordozó fehérje (ACP, 8847 dalton) 36.-ik aminosavaként szereplő szerinhez kapcsolódik a foszofopantetein oldallánc (CoA-analóg), amelyhez a lánchosszabításra váró sav kötődik. Ez a tioészterkötésben jelenlevő sav a kondenzációs reakcióban a komplex másik tagjához kapcsolt malonáttal szén-dioxid felszabadulása közben reagál. — A képződő acetoacil-ACP ezután a NADPH-függő  $\beta$ -keto-acil-ACP reduktáz szubsztrátumaként D- $\beta$ -hidroxi-acil-ACP-vé alakul. A továbbiakban a víz kilépését az enoil-ACP-dehidráz katalizálja; a kettős kötés telítését pedig az ugyancsak NADPH-függő enoil-ACP-reduktáz végzi. Az ACP-aciltranszferáz ezután a telített acilcsoporttal a növekedő intermediert tartalmazó ACPo-foszofopantetein oldalláncot acilezi. Ez a körfolyamat mindaddig folytatódik amíg a zsírsavlánc el nem éri a kívánt hosszúságot (palmitinsav esetében hét ciklus). Utolsó lépésként egy speciális *tio-transzészteráz* acetyl-CoA felhasználásával a zsírsavat acil-CoA formájában leválasztja az ACPx komplexről, miközben az x-foszofopantetein oldalláncra acilcsoport kerül amit ezt követően az előbbi ACP-aciltranszferáz visz át az ACPo-foszofopantetein oldalláncra. Ezzel elindul a következő zsírsav szintézise.

### A zsírképzés élettana

Tömegükre vonatkoztatva a zsírok (zsírsavak glicerín észterei) a legnagyobb energiát képviselő felhasználásra kész vegyületek a mikroba számára. Tartalék tápanyagként ideálisak. Zsírképzéskor egy foszfatáz hidrolizálja a foszfatidsav foszforsav észtert és az elkészült diacil-glicerinre az előbbi transzferáz újabb acil-CoA felhasználásával elhelyezi a harmadik zsírsavat. A zsírok hidrofób tulajdonságukból következőleg heterogén fázisként olvadáspontjuknak megfelelően szilárd részecskék alakjában vagy olajcseppek formájában találhatók a citoplazmában vagy a mikrobák vizes környezetében, viszonylag stabil szuszpenzió vagy emulzió formájában.

Legismertebb példa erre a friss tehéntej, amelyben a tejnek a fehérje- és foszfatidtartalma biztosítja a (víz-zsír) kolloidrendszer viszonylagos stabilitását. A mikrobák külső felszínének hidrofób jellegétől függően feldúsulnak a zsírcseppecskék felületén. Nem meglepő, hogy a lipidgazdag tejszínben található a baktériumok fő tömege - így az esetleg jelenlevő *Mycobacterium bovis* (a tehén-TBC kórokozója) is.

Folyékony tápközegben a lipidgazdag felszínű mikrobák gyakran egymáshoz tapadva jellegzetes aggregátumokat képezve növekednek, amit a táptalajhoz adott, élettanilag elviselhető detergenssekkel (tween-80) igyekeznek megakadályozni.

A táptalajban jelenlevő, energiaforrásként hasznosítható glicerid minden esetben a mikroba válaszreakcióját váltja ki. A hasznosítást elősegítendő a mikrobák hosszabb-rövidebb adaptációs idő után a lipolitikus enzimek hatásos működését befolyásoló, detergens jellegű anyagokat választanak ki. A mikroszervezetek egy része extracelluláris lipázt termel, más esetben a membrán külső oldalához kapcsolva működnek ezek az enzimek. A lipolitikus aktivitás eredményeként felszabaduló zsírsavak acil-CoA formájában jutnak a sejtbe, ahol a katabolikus folyamatok fűtőanyagként vagy szénforrásként hasznosulnak. Megtalálhatók membránt alkotó foszfolipidek építőelemeiként is.

A vízben nem oldódó trigliceridből a membránhoz kötött diglicerid aciltranszferáz választja le az első zsírsavat, amely egy átészterezési folyamat keretében CoA-S-acilát formájában jelenik meg a citoplazmában. A diglicerid a foszfatid-foszforiláz hatására, ATP felhasználásával foszfatiddá alakulva résztvehet a sejtmembrán felépítésében vagy pedig az  $\alpha$ -glicerinfoszfát aciltranszferáz egy újabb zsírsavat választ le róla CoA-acilát formájában. A folyamat végén visszamaradó  $\alpha$ -glicerinfoszfát egy NAD-függő dehidrogenáz segítségével dihidroxiaceton-foszfáttá oxidálódva kapcsolódhat az anyagcserebe.

### $\beta$ -oxidáció a mikroszómában

A citoplazma mikroszóma-frakciójában található  $\beta$ -oxidáló enzimkészlet a hosszú szénláncú zsírsavakat acetyl-CoA egységekké bontja egy-egy FADH<sub>2</sub> és NADH képződése közben. A redukált kofaktorok az oxidatív foszforilációt táplálva regenerálódnak. *Escherichia coli*-val végzett kísérletekben nem csak a lebontásban szerepet játszó mikroszómában rögzített multifunkcionális enzimkomplex tulajdonságait derítették fel, de a struktúrgéneknek a kromoszómán való elhelyezkedéséről is adatokkal rendelkezünk.

A zsírsav transzportját a baktérium külső membránjában helyet foglaló, 43 kDa méretű fehérje végzi, amelyet az L-gén kódol. A periplazmából a zsírsavat a citoplazmamembránba ágyazott, D-gén által kódolt acil-CoA-szintetáz tioészterként továbbítja a sejtbe, ahol szabad zsírsav nem fordulhat elő.

A zsírsavlebontás ( $\beta$ -oxidáció) a citoplazma mikroszómáiban folyik. Az első enzimet az acil-CoA-dehidrogenázt az E-gén kódolja. Ez az enzim a zsírsav C-2, C-3 szénatomjáról távolít el egy-egy hidrogént FADH<sub>2</sub> képződése közben, amelynek visszaoxidálása légköri oxigént hasznosítva peroxid képződéssel jár. A B-gén két

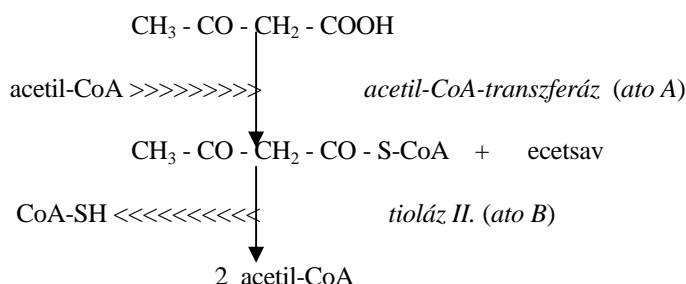
enzimet kódol az enoil-CoA-hidratázt és a NAD<sup>+</sup> kofaktorral működő 3-hidroxi-acil-CoA-dehidrogenázt. Itt találjuk a telítetlen zsírsavak lebontása szempontjából nélkülözhetetlen enoil-CoA-izomerázt és a hidroxiacil-CoA-epimerázt. A komplex utolsó tagja az A-gén által kódolt 3-ketoacil-CoA tioláz, amely egy acetyl-CoA felszabadításával két szénatommal rövidíti a lebontandó láncot.

A zsírsavlebontás sebességét a redukált kofaktorok oxidációja szabályozza. A zsírsavlebontás enzimeinek a képződését hosszabb szénláncú (12-18 szénatomszámú) zsírsavak indukálják; ennél rövidebbek hatástalanok. A 24 kDa méretű represszor fehérjét az R-gén kódolja a kromoszóma jól ismert régiójában. A represszor (R)-gén hibája miatt konstitutívan derepresszált mutánsokban az enzimmépződést glükózzal, illetve glicerinnel lehet represszálni. Ez a represszió cAMP-adagolással befolyásolható. Ilyen esetben két cAMP kapcsolódik a CAP-hoz. Azt is megállapították, hogy a cAMP receptorban sérült mutánsokban a zsírsav-bontó enzimkomplex nem indukálható.

A D- és az L-génben hibás mutánsokban a multifunkcionális enzimkomplex nem indukálható. (Lehetséges, hogy D- és L-gén termékei az aktív represszorkomplex olyan építőelemei, amelyek az induktorral való kapcsolódást segítik.) Az A-, B- és E-génben hibás mutánsokban az épen maradt enzimek képződését zsírsavakkal serkenteni lehet.

**Rövidebb szénláncú savak** lebontására külön enzimkomplex szolgál, amelynek képződését az acetecetsav indukálja. A membránon átkerülő rövid szénláncú savat (vajsav, acetecetsav) az *atoA*-gén által kódolt acetoacetyl-CoA-transzferáz aktiválja ecetsav képződés közben. Az enzimkomplex második, *atoB*-gén által kódolt tagja a tioláz II, amely egy CoA-SH felhasználásával két acetyl-CoA képződését katalizálja.

#### Rövid szénláncú savak bontása *Escherichia coli*-ban



Zsírsav szénforráson az *aceA*-gén által kódolt izo-citratáz és az *aceB*-gén által kódolt malát-szintetáz aktivitása nő. A multikomplex rendszer képződését szabályozó represszor (R) gén terméke befolyásolja a glioxalát-út enzimeinek – különösen az izocitrát-liáznak – a képződését. Ez a folyamat a glioxiszómának nevezett enzimkomplexben szolgálja a zsírsavlebontás közben képződő acetyl-CoA hasznosulását oxálecetsav-képződés irányában.

**A mezoszóma** valójában a membrán betüremlése a citoplazmába. Különösen fontos a szerepe a Gram-pozitív mikrobáknál, ahol a mezoszóma megnöveli a peptidoglikán sejtfa és a membrán között levő periplazmikus teret. Elektronmikroszkópos felvételek szerint a Gram-pozitív baktériumoknál a DNS-replikáció folyamatában a mezoszómának is fontos szerepe lehet. Az ATP-szintézisért felelős enzimkomplex nagyobb mennyisége is itt helyezkedik el. A mezoszóma fiziológiai jelentőségére utal, hogy a Gram-pozitív mikroorganizmusok protoplasztjain is jól látható a szerkezete. A *Micrococcus lysodeikticus* - neve lizozim érzékenysége utal - mezoszómájában jelentős peptidoglikán-hidrolizáló aktivitást találtak, amely a sejtosztódáskor fontos szerepet kap, lazítja az osztódó sejtek közötti kapcsolatot. A Gram-negatív baktériumokban a mezoszóma jelentéktelen méretű, protoplasztá-láskor tartalmát kiürítve kisimul. Szerepét valószínűleg átvállalja a külső membrán, amely a periplazmikus térbe kiválasztott enzimek távozását megakadályozza.

**A belső membrán szerkezete.** A prokarioták elektronmikroszkópos felvételein sok esetben a citoplazmában különleges belső membránszerkezet figyelhető meg. Bizonyos reakcióutak mikroszómákba, glioxiszómába szerveződve működnek. Ezek a kettős rétegek olyan enzimrendszereket tartalmaznak, amelyek az életműködést fenntartó elektronáramlást biokémiaiilag hasznosítható energiacsomagokká alakítják. Jelentős mennyiségű ilyen membrán található a fototróf baktériumokban, az azotobakterekben és a kemolitotróf baktériumokban, főleg azokban az organizmusokban, amelyekben az elektrontranszport-rendszer különleges szerveződésű.

Az eukariótáknál erre a feladatra külön sejtalkotórészek – mitokondriumok, kloroplastok, mikrotestek – szolgálnak, de méretükből adódóan a prokariótákkal összevetve lényegesen bonyolultabb belső membránszerkezet szervezi jól szabályozott egységes rendszerré a biokémiaiilag és élettanilag összefüggő anyagcsere hálózatot..

## A SEJT IGÉNYELTE MEMBRÁNPOTENCIÁL FENNTARTÁSA

Az elmúlt néhány milliárd év alatt az élővilág szinte minden lehetséges módszert kipróbált az élő sejt belső terét a külvilágtól elválasztó membrán két oldala közötti membránpotenciál fenntartására. A kemoozmotikus kapcsolási hipotézis szerint valójában az oxidációs energia jelenik meg a hidrogén ion által fenntartott elektrokémiai membránpotenciál formájában. Ezt a kedvező állapotot valamilyen aktív protonpumpa működtetésével éri el az élő sejt, mivel a membrán — amelyben a légző lánc egyes elemei rögzítve vannak — a hidrogén és a hidroxil-ionok számára átjárhatatlan. Az ionvándorlás lehetőségét mindkét irányban a membránpotenciál hatására kialakuló protongrádiens teremt meg az erre szolgáló csatornákon. A protont mozgó erőt így milivoltokban adható meg.

$$\Delta P_{pH} = \Delta \psi - Z \cdot \Delta pH$$

$\Delta \psi$  = a membrán külső és belső oldala között mérhető potenciál különbség

$\Delta pH$  = a membrán külső és belső oldala között mérhető pH különbség

$$Z = 2,3 \frac{R T}{F} \quad (\text{számszerűen } 59 \text{ mV } 25 \text{ }^\circ\text{C-on})$$

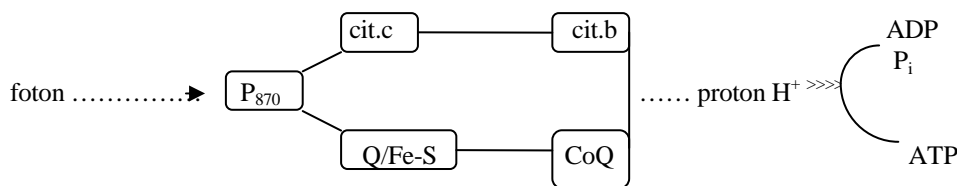
R= egyetemes gázállandó

T= a hőmérséklet Kelvin fokban

F= Faraday állandó

Az élet fennmaradásának a fizikai-kémiai alapja az elektronmozgás fenntartása, az elektron áramlása az elektron donorról az elektronakceptor felé. Az élő rendszer igényelte elektronmozgás fenntartására leginkább az élőlény környezetében előforduló elektron donoroként, illetve -akceptoroként szóba jöhető vegyületek, illetve elemek kerülnek felhasználásra. Sok esetben külső energia, például fényenergia szolgáltatja a mozgó erőt.

Ciklikus fotofoszforiláció az anaerob fototrófoknál



A proton mozgó erőt (PME) nagysága adott esetben az elektron donor és az akceptor közötti redoxipotenciál különbséggel jellemezhető. Az így mérhető érték határozza meg az elektronáramlás pozitív irányultságát.

{Tudvalevő, hogy az úgynevezett szétkapcsolószerek, mint például a membránban jól oldódó, azon akadálytalanul áthatoló dinitrofenol protonhordozóként kiegyenlíti a membrán két oldala között létrehozott pH-grádiens és ezzel megakadályozza az ATP képződést. Az energiahány felgyorsítja a katabolizmust, növeli a légzést, végül is a szervezet pusztulását okozza.}

A mikroszervezet működését vizsgálva protonmozgó erőt (PME) szolgáltató és protonmozgó erőt hasznosító folyamatokat különböztethetünk meg. PME-t szolgáltat a citokrómokkal kapcsolt elektrontranszport-rendszerek működése, az ATP-hidrolízis, az anyagcsere termékek kiáramlása, a bakteriorodopszin működése. PME-t hasznosítanak a transzhydrogénáz reakciók, az ATP-képződés, az ostormozgás, a transzport folyamatok.

Az ATP hidrolízise legalább kettő, de inkább négy proton átáramlását okozza. A komplex működését a sejtben levő ATP/ADP arány befolyásolja. A protonmozgó erőt azonban képes — az ATP-hidrolízist megfordítva — katalizálni az ATP-képződést. A komplex megfordítható működése életfontosságú az anaerob életkörülmények esetében, amikor az ionmozgást biztosító ATP-t a citoplazmában folyó endergonikus reakciók eredményeként a szubsztrátszintű foszfóforiláció szolgáltatja.

Az energia gazdag foszfátok hidrolízisekor felhasználható energia

ATP	→	ADP + P <sub>i</sub>	-30,97 kJ
ATP	→	AMP + PP	-31,81 kJ
acetyl-P	→	acetyl + P <sub>i</sub>	-44,8 kJ
PEP	→	pyruvate + P <sub>i</sub>	-51,5 kJ

Az elektronmozgás biológiai-kémiai eredményeként két életfontosságú faktor, a redukált kofaktor képződés és az energiagazdag foszfátkötés említendő. Ennek a folyamatnak a gazdaságossága a létért való küzdelem szelekciós hatású eleme. A leggazdaságosabb életműködésért folyó verseny résztvevői a szabályozási mechanizmusok egyre tökéletesebb formáinak kifejlesztésére kényszerültek

**Redoxipotenciál értékek az elektrondonor és -akceptor között.**( $\Delta E'_0$  volt/mol 7 pH, 1 atm. 25 °C)

$\alpha$ -ketoglutarát/szukcinát	-0,68	2 e <sup>-</sup>	
Ferredoxin <sub>ox/red</sub>	-0,48	1 e <sup>-</sup>	
CO <sub>2</sub> /glükóz	-0,43	24 e <sup>-</sup>	
2 H <sup>+</sup> /H <sub>2</sub>	-0,42	2 e <sup>-</sup>	
CO <sub>2</sub> /metanol	-0,38	6 e <sup>-</sup>	obligát anaerob
NAD(P) <sup>+</sup> /NAD(P)H	-0,32	2 e <sup>-</sup>	
CO <sub>2</sub> /acetát	-0,28	8 e <sup>-</sup>	obligát anaerob
S <sup>0</sup> /H <sub>2</sub> S	-0,28	2 e <sup>-</sup>	fakultatív aerob, illetve obligát anaerob
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> /H <sub>2</sub> S	-0,22	8 e <sup>-</sup>	obligát anaerob
piruvát/laktát	-0,19	2 e <sup>-</sup>	
flavin enzim <sub>ox/red</sub>	-0,06	2 e <sup>-</sup>	
S <sub>4</sub> O <sub>6</sub> <sup>2-</sup> /S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	+0,024	2 e <sup>-</sup>	
fumarát / szukcinát	+0,03	2 e <sup>-</sup>	fakultatív aerob
Citokróm b <sub>ox/red</sub>	+0,035	1 e <sup>-</sup>	
Ubiquinon <sub>ox/red</sub>	+0,11	2 e <sup>-</sup>	
Citokróm c <sub>ox/red</sub>	+0,25	1 e <sup>-</sup>	
Citokróm a <sub>ox/red</sub>	+0,39	1 e <sup>-</sup>	
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	+0,42	2 e <sup>-</sup>	fakultatív aerob
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /N <sub>2</sub>	+0,74	5 e <sup>-</sup>	
Fe <sup>3+</sup> /Fe <sup>2+</sup>	+0,76	1 e <sup>-</sup>	fakultatív aerob, illetve obligát anaerob
Mn <sup>4+</sup> /Mn <sup>2+</sup>	+0,798	2 e <sup>-</sup>	
<sup>1</sup> / <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O	+0,82	2 e <sup>-</sup>	obligát aerob, illetve fakultatív aerob
N <sub>2</sub> O/N <sub>2</sub>	+1,36	2 e <sup>-</sup>	

A fenti adatokból számítható az energia egyenérték-változás:  $\Delta G^\circ = -nF \cdot \Delta E'_0$   
 $n$  = átvitt e<sup>-</sup> száma,  $F$  = Faraday állandó (96,48 kJ/volt),  $\Delta E'_0$  volt /mol redoxipotenciál

A redoxipotenciál értékekből számítható a felszabaduló energia a reagáló párok esetére

:

	különbség volt-ban	$\Delta G^\circ$ /mol
H <sub>2</sub> /NADH	0,10 V	-19,3 kJ
NADH/flavin enzim	0,24 V	-46,46 kJ
Flavin enzim/citokróm b	0,04 V	-7,7 kJ
Citokróm b/citokróm c	0,31 V	-59,86 kJ
Citokróm c/citokróm a	0,02 V	-3,86 kJ
Citokróm a/ O <sup>2-</sup>	0,52 V	-100,46 kJ
NADH/ <sup>1</sup> / <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1,13 V	-212,67 kJ

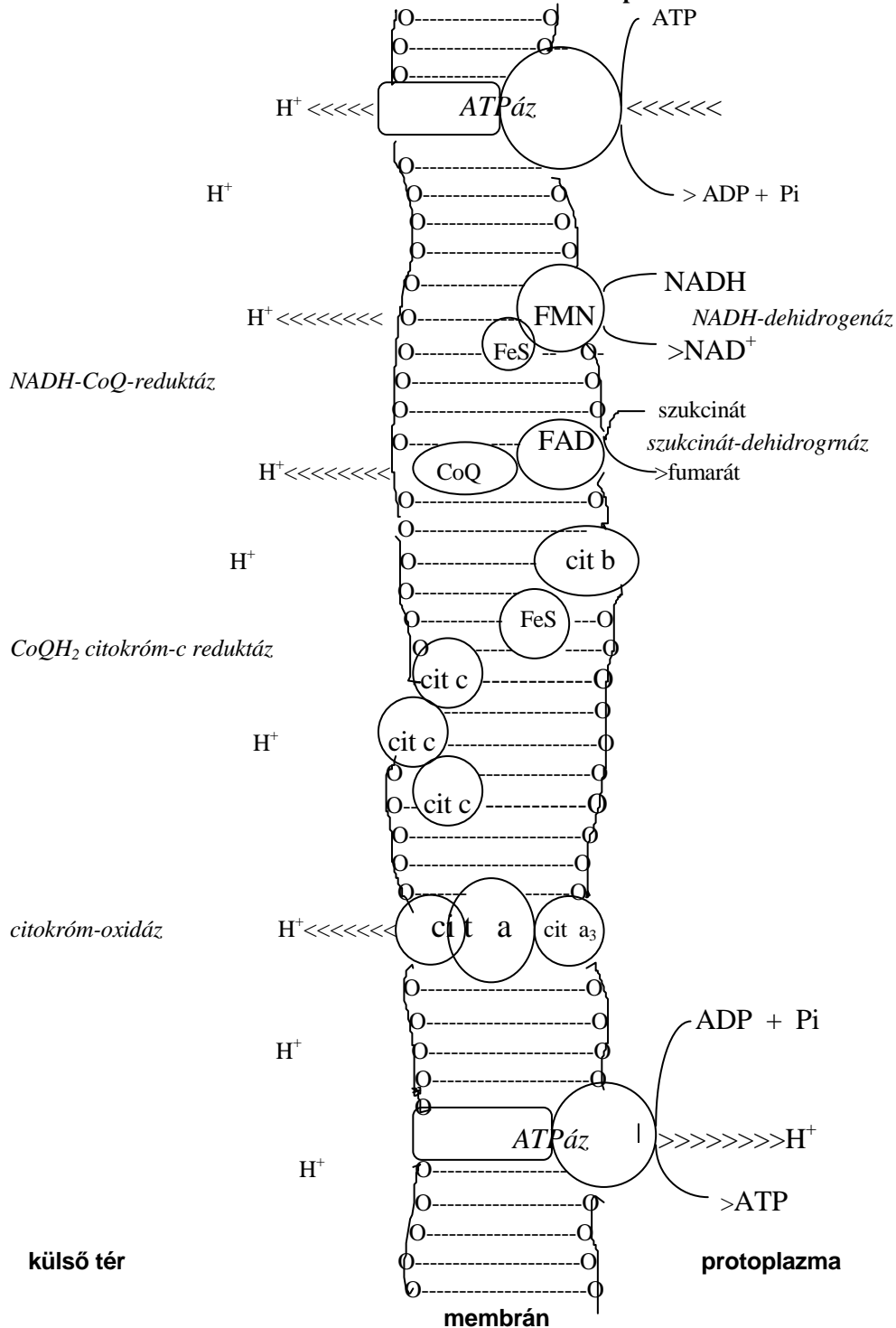
Donor	termék	$\Delta G^\circ$ /mol
2H <sub>2</sub> / fumarát	szukcinát	-86 kJ
H <sub>2</sub> / NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	nitrit + víz	-163 kJ
H <sub>2</sub> / <sup>1</sup> / <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	víz	-237 kJ
4 H <sub>2</sub> / CO <sub>2</sub>	metán + 2 víz	-135,6 kJ

Ősi elektronforrásként ismert a kemotrófok számára a hidrogén, a kén és különböző fémek sói. Ezekről származó elektronáramlás alakítja ki az élet fenntartását biztosító protongrádiens. A kemoorganotrófok energiaforrásként - elektrondonorként - a glükózt bontják piroszőlősavig, illetve ecetsavig egyrészt a glikolízis, másrészt a pentózfoszfát-ciklus útján. Ez utóbbi út zavartalan működése a nukleinsav-építőelemek szintézise szempontjából fontos. Az elektrondonorként szolgáló energiaforrás gazdaságosabb hasznosulását teszi lehetővé a citokrómokból felépülő légzőrendszer működése. A szénváz ez esetben a Krebs-ciklusban alakul szén-dioxiddá, miközben az eltávolított elektronok NADH, illetve FADH<sub>2</sub> közvetítésével jutnak a terminális oxidáció láncnak nevezett légzőrendszerhez, amely az elektrondonorként szereplő vegyületről eltávolított elektronokat a lánc utolsó tagjaként működő specifikus citokrómoxidáz segítségével a kiszemelt (elektron) akceptorra viszi.

A citokrómok a légzési lánc fontos csoportját alkotják. Több típusuk ismeretes; ezeket az abc kisbetűivel jelölve, adott esetben indexszámmal különböztetik meg. Mindegyik tartalmaz hem-vasat, ami reverzibilisen elektron felvételére, illetve leadására képes. A citokróm c kivételével általában nehezen távolíthatók el a membránból. A légzőrendszer, megfelelő mennyiségű oxigén jelenlétében, az elektronokat az oxigénre juttatja. A komplex utolsó rezeset is tartalmazó tagja (citokróm a), ugyanis az oxigénnel közvetlenül képes reagálni; ezért nevezik citokrómoxidáznak. A reakció közben a vízben oldott molekuláris oxigént redukálva instabil oxanion képződik, ami a jelenlévő protonnal vízzé egyesül. A légzőrendszer működése cianiddal, aziddal és szén-monoxiddal gátolható.

A redoxipotenciál táblázat adatait tanulmányozva jól követhető az elektron útja a membránban elhelyezkedő elektrontranszport-fehérjéken keresztül az elektronakceptor felé:  
 flavin enzim (-0,06 volt/mol)  $\Rightarrow$  citokróm b (+0,035 volt/mol)  $\Rightarrow$  citokróm c (+0,25 volt/mol)  $\Rightarrow$  citokróm a (+0,39 volt/mol)  $\Rightarrow$   $\text{NO}_3^-$  (+0,42 volt/mol)  $\Rightarrow$   $\text{Fe}^{++}$  (+0,76 volt/mol)  $\Rightarrow$   $\text{O}_2$  (+0,82 volt/mol)

**Az oxidatívfoszforiláció elektrontranszportláncja a membránban**



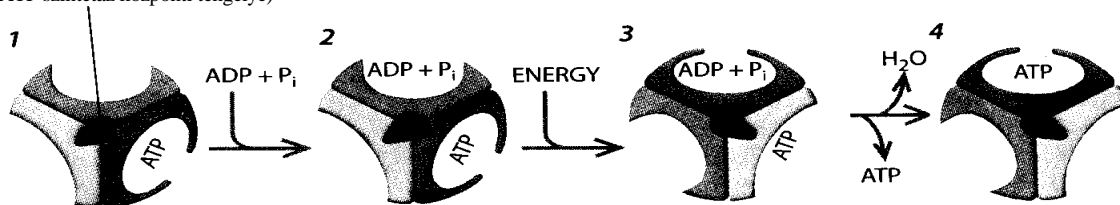
Mivel a földi élet kialakulása közben a légkör oxigéntartalma fokozatosan növekedve érte el a mai szintet, nem meglepő, hogy találunk olyan mikrobákat, amelyek citokróm rendszere a mainál csekélyebb oxigén jelenlétében is működőképesek. Az *Escherichia coli* például egy-két százalék oxigént tartalmazó légkörben is képes aerob légzőrendszerét működtetni. A sejtmembránba rögzített *citokróm oxidáz* mellett olyan eltérő tulajdonságú nagy oxigénaffinitású *citokróm oxidáz* működik, amely oxigénszegény tenyésztési körülmények között is képes működésben tartani a terminális oxidációs rendszert.

Ez a transzferrendszer teszi lehetővé a mikroszervezet számára azt, hogy az energiaforrásként használt tápanyag lebontása folyamán bekövetkező szabadenergia-csökkenés jelentős része később felhasználható diszkrét energia csomagok (ATP) formájában kerüljön raktározásra. Az elektrontranszport-rendszer végeredményben az elektron donor és az elektronakceptor közötti nagy redoxipotenciál-különbséget hasznosítja. A felszabadított energia fennmaradó része hő alakjában jelenik meg, nem kis gondot okozva a fermentációs technológiai folyamatok kivitelezésekor. A reakcióér hűtésével lehet az eljárás szempontjából optimális hőmérsékletet tartani.

A transzportrendszeren áthaladó elektronáram (protongrádiens) több ATP képződését teszi lehetővé. Ezért a folyamatot oxidatív foszforilációnak is nevezik. Maga a transzportrendszer és a hozzákapcsolódó energiatároló mechanizmus nehezen vizsgálható. Tanulmányozása végett a sejteket adott esetben fel kell tárnai, miközben az egész légzőrendszert elroncsoljuk. A légzési lánc egy meglehetősen merev szerkezetbe rendezett fehérjékből álló, lipidtartalmú komplexrendszer. A reakciólánc térben rögzített, de egymástól elszigetelt tagjainak a redoxipotenciálja olyan sorrendben válik egyre pozitívabbá, ahogy az elektron a szubsztrátumtól az elektronakceptor felé halad. Az elektrontranszportlánc különböző helyein vas-kén fehérje is található. Az  $Fe_2S_2$  vagy  $Fe_4S_4$  csoport a fehérje cisztein oldalláncaihoz kötődik.

A foszforilációt katalizáló ATP-áz komplex és elektrontranszport-lánc egyes tagjai működésük sorrendjében, egymástól optimális távolságban helyezkednek el a membránban. Az ATP-szintézis valójában egy körfolyamatba illeszkedő mechanokémiai reakció eredménye. A három reakcióterrel rendelkező fehérje mozgási irányát a protonáramlás határozza meg. Az egyik szektorban ATP helyezkedik el. A szomszéd szektor veszi fel az ADP-t és az anorganikus foszfátot. A harmadik szektor köztes állapotban vár a protongrádiens által meghatározott protonmozgás irányától függő feladatára. A citoplazma irányába haladó protonáramlás a fehérje-komplex forgószínpadszerű elmozgatásával olyan konformáció változást okoz, amely elősegíti az ATP leválását, miközben kedvez a felvett ADP és a foszfát között létrejövő nagyenergiájú kötés kialakulásának. P. D. Boyer és munkatársai húsz év múlva, 1997-ben Nobel-díjban részesültek felfedezésükért.

#### Boyer mechanokémiai elképzelése az ATP szintetázról (fordulatonként 1 ATP képződik) (ATP szintetáz központi tengelye)



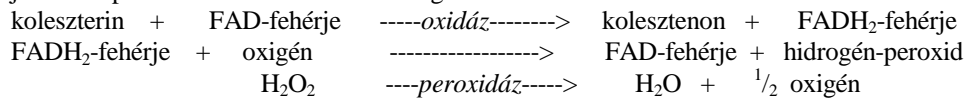
Az ATP-áz komplex két fehérje-asszociátumból szerveződik. Az egyik molekula-asszociátum, a három reakcióterű katalitikus aktív centrumot tartalmazó fejrész öt alegységből épül fel. Viszonylag könnyen eltávolítható a membránból alacsony ionerősségű pufferrel való mosással.

A komplex másik része (az alaprész), olyan szorosan kötődik a membránhoz, hogy csak a membrán feloldásával szabadítható abból ki. Ez a fehérje-lipid asszociátum legalább három, de inkább öt alegységből áll. Ebben helyezkedik el a protont átvezető csatorna. Ez a csatorna specifikusan blokkolható kémiai vegyületekkel. A hidrofób tulajdonságú alaprész a fejrészhez egy oligomicin antibiotikumra érzékeny fehérje kapcsolja. Az *Escherichia coli* ATP-áz komplexében egy szabályozó fehérjét is kimutattak, ami megakadályozza az ATP-hidrolízis túlműködését.

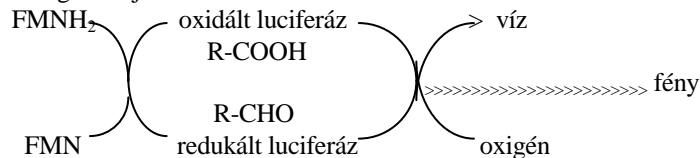
A NADH-hordozta elektron csak a flavin mononukleotidot tartalmazó flavoprotein (NADH-dehidrogenáz) keresztül léphet a rendszerbe. Ez a vastartalmú fehérje átmenetileg redukálódva juttatja át az elektront a hosszú ideig felderítetlen, bár az élővilágban mindenütt előforduló és ezért Morton által ubiquinonnak (CoQ) nevezett elektronátvivő vegyületre. Ennek a vegyületnek a hidrogén felvételére alkalmas kinon részét (K-vitamin esetében a naftokinon részét) 6-10 tagú izoprén-polimer rögzíti a membránba. Szerepük különösen fontos, mert ezek a vegyületek inga módjára működve, a dehidrogénezéskor leválasztott két elektront a protontól különválasztva továbbítják a citokróm enzimkomplex első tagjához, a citokróm b fehérjéhez. Mivel az ubiquinon az elektront a citokróm b-hez csak egyenként továbbíthatja, nem meglepő, hogy átmenetileg, rendkívül rövid ideig létező, köztes redoxipotenciálú, félig oxidált, félig redukált intermediérral kell számolni.

Az ubiquinon nemcsak a redukált flavoproteinről, hanem a borostyánkősav- dehidrogenáz kofaktoráról, a  $FADH_2$ -ről is képes az elektront a citokrómok felé továbbítani. A különbség azonban jelentős, mert amíg a NADH

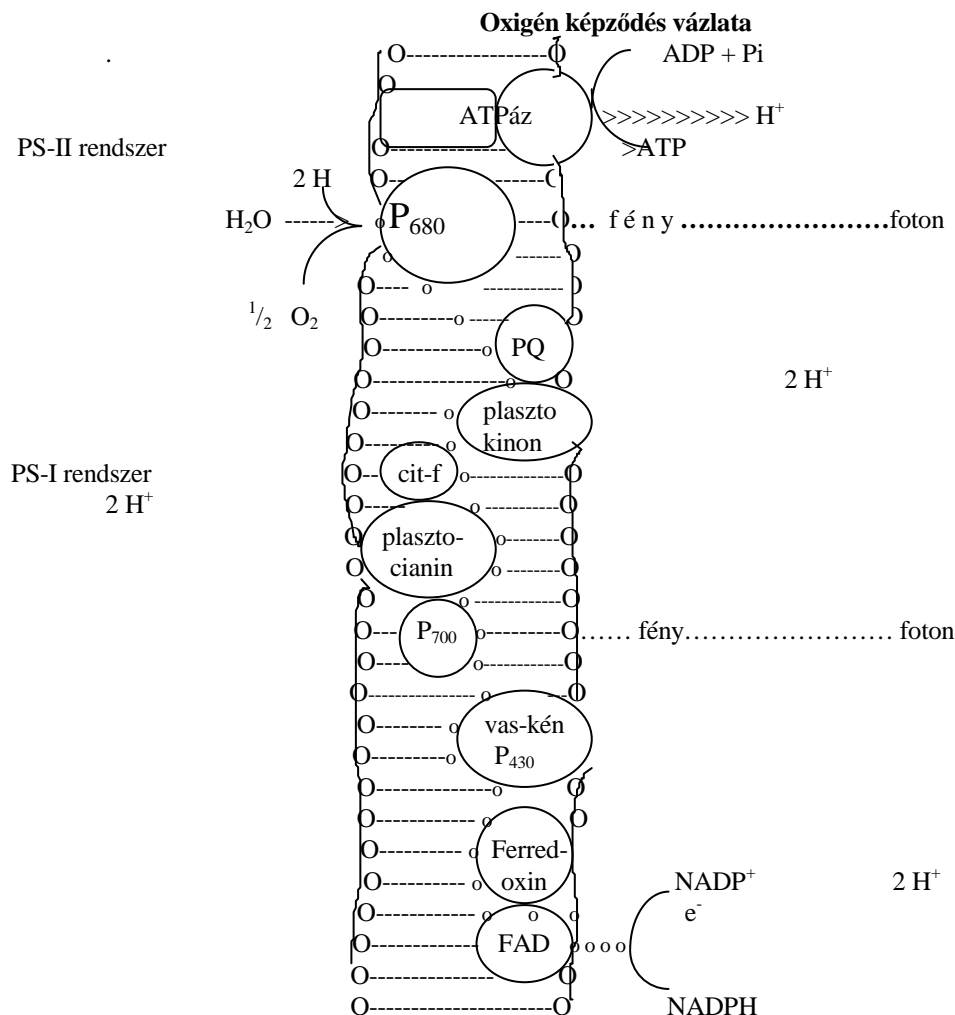
dehidrogénezését végző, FMN-tartalmú flavoprotein redukciója közben jelentkező protongrádiens egy ATP képződését katalizálja, addig a szukcinátról származó elektronok a FAD-enzim által katalizált átvitele nem jár ATP-képződéssel. — Megjegyzendő, hogy egyes redukált FAD-enzimek (oxidázok) a levegő oxigénjével is képesek visszaoxidálódni hidrogénperoxid képződése közben. Ez a toxikus vegyület azonban a mikroorganizmusokban jelenlévő peroxidáz hatására vízre és oxigénre bomlik.



Ez a reakciósor energetikai szempontból ugyan haszontalan, mégis fontos söntfeladatot lát el: sok esetben méregtelenítést végez. A *Photobacterium* fajokban a luciferáz típusú flavoprotein a redukált kofaktorokat látható fény kisugárzása közben regenerálja.



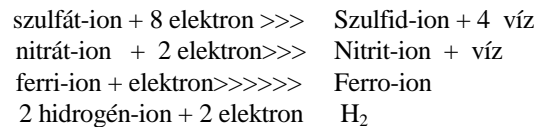
Számos esetben az energianyerés nem igényel redukált piridinnukleotid képzést, mert az oxidáció közben eltávolított elektronok közvetlenül kerülhetnek az erre a célra kialakult citokróom rendszerbe, amely azután az oxigénre továbbítja (etanol + oxigén ⇌ ecetsav + víz). — Oxidatív foszforiláció megy végbe a fototróf prokarióta belső membránjában is, ahol valamikor az oxigénlégkör megteremtése indult vízből, mint elektrondonorból.



A dehidrogénezési folyamat előrehaladása közben az életműködés szempontjából fontos faktorok (ATP, NADH, NADPH stb.) meghatározott sztöchiometriai arányban képződnek, jóllehet a mikroorganizmus egyes életszakaszaiban az igények jelentős minőségi és mennyiségi eltérést mutatnak. Az enzim szintű ATP-képződést a redukálható kofaktorok (NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup>) mennyisége egyértelműen meghatározza. Tehát a redukált kofaktorok visszaoxidálhatósága az életben maradás feltételeként jelentkezik. Ennek a problémának a feloldására különböző

alternatív elektrontranszport-rendszerek szolgálnak. Az elektronakceptor lehet akár az oxigén is. Feladatuk a túlélés biztosítása. Közös jellemzőjük, hogy tapasztalat szerint toxikus peroxidok képződése nélkül megoldják a dehidrogénezési folyamatok közben megjelenő redukált kofaktorok regenerálását. Alternatív légzésnek nevezik a cianiddal nem, de szalicilsav-hidroxamáttal gátlható rendszert, amely ATP-képződés nélkül juttatja át a redukált kofaktorokról az elektront a tápközegben oldott oxigénre, mint elektronakceptorra.

Számos példát találunk a mikroszervezetekben az anaerob légzésnek nevezett kofaktor-regenerálási folyamat működésére. Elektronakceptorként szerepelhet anaerob körülmények között a nitrát, illetve a szulfát, de elektronakceptorként szerepelhet valamilyen redukálható fémion, például a három- értékű vas-, vagy a hidrogénion. Ilyen esetben a környezetben fellelhető elektronakceptorként szereplő vegyületekre kerül az elektron. Az *Escherichia coli* esetében citokróm b közvetítésével a nitrát-reduktázra, vagy a citokróm c közvetítésével a szulfátredukáló rendszerbe kerül az elektron.



Ez utóbbi esetekben az akceptorra jutó elektronok száma lényegesen kevesebb, mint az oxigént hasznosító légzésnél. Ez a mikroba lassú növekedésében is észlelhető.

A fermentációra képes törzseknél anaerob körülmények között a szubsztrátszintű foszforiláció biztosítja az energiaellátást. Az endergonikus reakciók (pozitív szabadenergia-változás) folyamán közvetlenül ATP képződik, ami azonnal felhasználódik egy újabb lebontásra váró vegyület képződéséhez. A közben képződő redukált nukleotidok bizonyos bioszintetikus folyamatokhoz használnak fel. — Anaerob körülmények között a kofaktorok regenerálására különböző fermentációs folyamatok alakultak ki, amelyek közös jellemzője, hogy mindegyik a piroszőlősav továbbalakításával oldja meg ezt a feladatot.

<i>Clostridium</i> -ok fermentlelvében	tejsav, butanol, izopropanol, acetone képződik
<i>Enterobacter</i> -ek fermentlelvében	etanol, butándiol, hangyasav, tejsav, hidrogén képződik
<i>Escherichia</i> nemzetség	Borostyánkősav, etanol, tejsav, ecetsav
<i>Lactobacillus</i> -ok fermentálásakor	piruvát redukációjával tejsav képződik
<i>Propionibacterium</i> -ok hatására	propionsav, ecetsav, hidrogén fejlődik
élesztők fermentációs termékeként	szén-dioxiddal equivalent mennyiségű etanol fejlődik

E fermentációs folyamatok közös jellemzője, hogy az elektronm-akceptorként szereplő vegyületek a tenyészközegben maradva — ott felszaporodva — végül is toxikus hatást (például alkoholmérgezés) fejtenek ki a mikroszervezetre, azaz a folyamat leállításával kell számolnunk.

## ANYAGFELVÉTEL - A MEMBRÁN TRANSPORTFOLYAMATAI

Az élő sejt belső terét a környezettől a citoplazmamembrán választja el, miközben az életműködéshez szükséges anyagok is a membránon keresztül juthatnak a sejtbe. Az anyagcsere végtermékei, esetenként a túltermelődő köztes vagy melléktermékek - az úgynevezett primer és szekunder anyagcsere-termékek - ugyancsak a membránon keresztül kerülnek a környezetbe.

A környezetben előforduló és tápanyagként hasznosítható polimerek, óriásmolekulák általában csak építőelemeikre hidrolizálva juthatnak a sejtbe; kivételt képez a kettős szálú DNS, amely egyelőre részleteiben felderítetlen módon a sejt belsejébe kerülve bizonyos genetikai információk átvitelét teszi lehetővé.

A citoplazmamembrán régebben ismeretlen permeabilitási viszonyai nem egyszer téves nézetek kialakulásának és elterjedésének kedveztek. A "kryptic enzyme" is ide sorolható. Ezzel az elnevezéssel illeték például a citromsavat hasznosító enzimrendszert, amelynek működését ép sejtben nem, csak sejtmentes kivonatban lehetett észlelni. A baktériumot egy enzimekkel töltött, félig áteresztő hártýából készült zsáknak tekintették, amelyben bizonyos enzimek a sejten belüli koncentrációviszonyok miatt nem működhetnek.

A glükóz jelenlétében növekedő *Bacillus subtilis* például nem hasznosítja a tenyészethez adott citrátot, de ha a mikroba előzőleg citrátot, mint egyedüli szénforráson növekedett, akkor jól metabolizálja azt. A két tenyészetből nyert sejtmentes kivonat viszont egyformán bontja a citromsavat, ami nem meglepő, hiszen a citrátkör működőképessége létfontosságú minden szervezet számára. Az eltérést az okozza, hogy a citrát felvételét egy citráttal indukálható, glükózzal represszálható transzportmechanizmus teszi lehetővé.

Ugyancsak indukálható transzportmechanizmusok szükségesek a laktóz, az arabinóz, a cukorfoszfátok és még sok más vegyület felvételéhez.

A transzportmechanizmusokat két nagy csoportra oszthatjuk: aktív folyamatokra, amelyek a koncentrációgrádienssel szemben is működőképesek és a koncentrációkülönbségtől függő passzív folyamatokra. A két folyamat egyidejű jelenlétével is találkozhatunk.

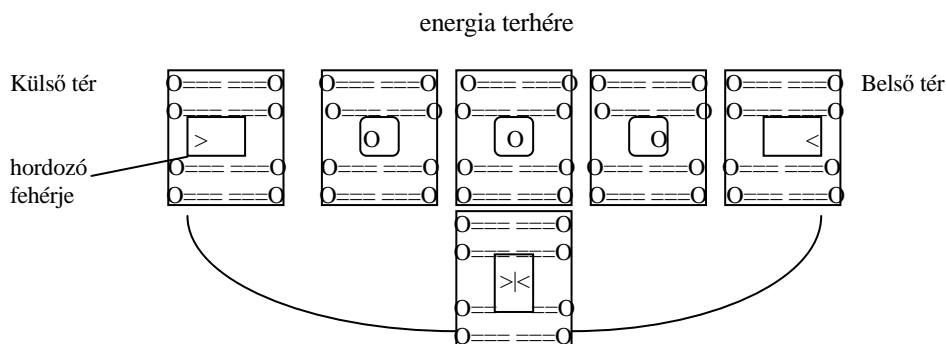
Passzív transzport esetében energia felhasználása nélkül, az anyag felvétele a koncentrációviszonyoknak megfelelően, a magasabb koncentráció felől az alacsonyabb koncentráció irányába folyik. Kis molekulák (alkohol, glicerin, acetát, rövid savak) nem disszociált alakban könnyen átjutnak a membránon különleges hordozó-fehérje segítségével is. A fermentációs folyamatban képződő savak nem disszociált formában a sejten belül megjelenő proton kiszállításában fontos szerepet játszanak.

Elősegített transzport esetén már valamilyen hordozó fehérje (karrier fehérje) segíti bizonyos vegyületek szelektív áthaladását a membránon. Két típusát különböztetjük meg ezeknek a fehérjéknek. Az egyik bizonyos csatorna kialakításával, a másik viszont mechanikus mozgásával szállítja a szubsztrátumot a koncentrációgrádiensnek megfelelően a membrán másik oldalára. Ez utóbbi esetben a karrier fehérje terciér szerkezetében a szállítandó molekulának a bekötődése olyan változást okoz, amely elősegíti, illetve gyorsítja a transzportfolyamatot.

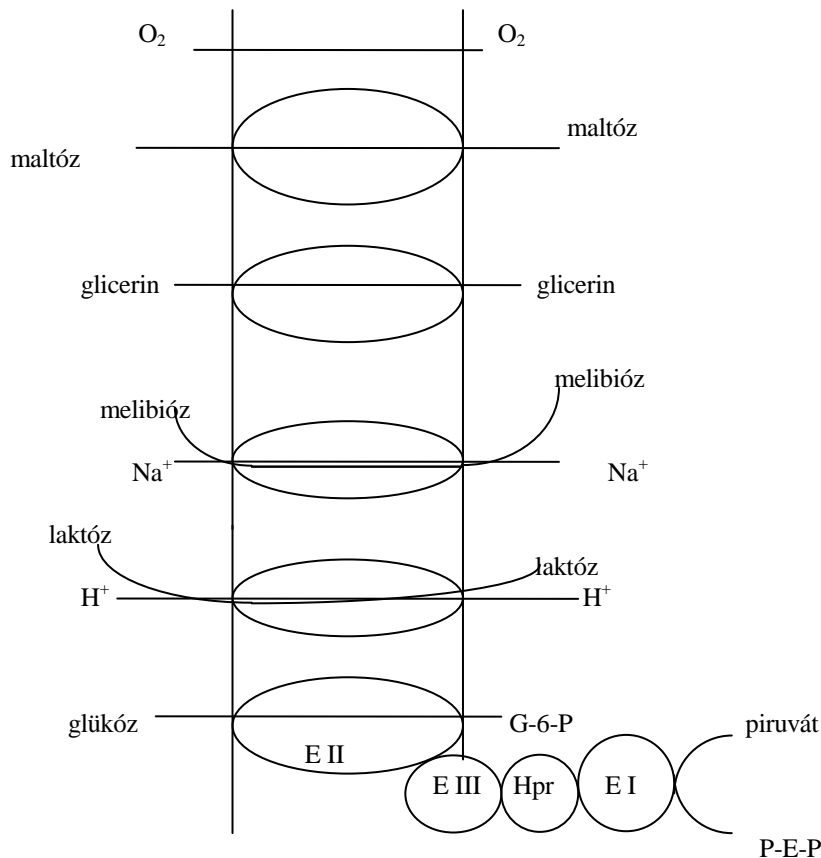
Az anyagátvitel elősegítésére szolgáló fehérjék nagy változatosságot mutatnak. Többségük genetikai adottságként állandó mennyiségben van jelen a membránban, mások viszont az életviszonyok függvényében az igényeknek megfelelően képződnek. A membrán fizikai állapota, a hőmérséklet csökkenésével járó merevedése eltérő módon hat a transzportfehérjékre. A csatorna jellegű karrier fehérje szállítóképessége nem érzékeny a környezet hőmérsékletének a változására, a mozgékony hordozó működését viszont jelentős mértékben befolyásolja a membrán flexibilitásának a változása.

Aktív transzport esetében valamilyen koncentrációgrádiens ellenében folyik az anyagátvitel. A transzport folyamat, az ozmotikus munka elvégzése ez esetben kémiai energia befektetését igényli.

### Aktív transzport hordozó fehérjével



### Transzportmechanizmusok a citoplazmamembránban



A folyamat kinetikája a Michaelis-Menten egyenlettel leírható. Számíthatók a  $V_{max}$  és a  $K_m$  értékek. A transzport érdekében befektetett energiát ( $\Delta G^0$ ), (szabadenergia-változást) számszerűsíti az egyenlet.

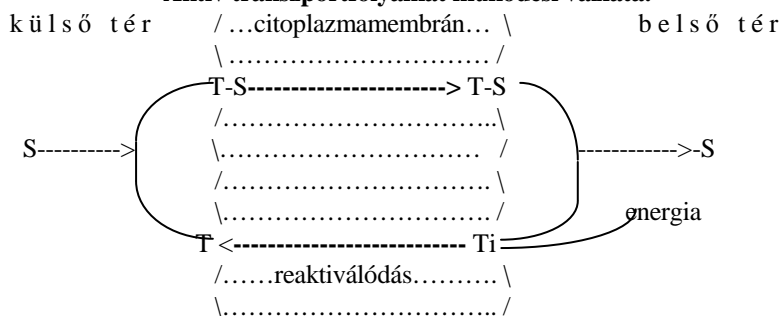
$$\Delta G^0 = RT \cdot \ln \frac{C_2}{C_1}$$

Egy molnyi töltés nélküli molekula átviteléhez egy nagyságrend koncentrációkülönbséggel szemben 20 °C-on 5585 kJ energia szükséges. Töltéssel rendelkező molekula átvitele esetén az egyenlet koncentrációgrádiense elektrokémiai potenciálgrádiensként szerepel és megjelenik az egyenletben az oldott molekulák töltéseinek számával (Z) szorzott Faraday-egység (F) és a membránpotenciál (V).

$$\Delta G^0 = RT \cdot \ln \frac{C_2}{C_1} + Z \cdot F \cdot V$$

A hordozófehérje szerkezetének a megváltoztatásához energia szükséges. A permeáló (S) vegyületre specifikus hordozó fehérje konformációjának a megváltozása, inaktíválódása ( $T \rightarrow T_i$  inaktív permeáz) az előzőleg megkötött (permeáló) vegyület kötődését befolyásolva, a molekula leválását okozza. A kötő fehérje (T) nem lép kovalens kapcsolatba a permeáló vegyülettel (S), csupán laza asszociátumot (T-S töltött permeáz) képez vele.

#### Aktív transzportfolyamat működési vázlatja.



Az inaktivált transzportfehérje (Ti) a membránban aktiválódva hamarosan újra alkalmassá válik a permeáló molekula felvételére. Ezért amíg a sejt belső energiaszintje nem csökken, addig anyagkiáramlás gyakorlatilag nem következik be. Ha az *E. coli* sejtet előzőleg  $\beta$ -galaktoziddal telítjük, majd galaktozid mentes közegbe helyezük, csupán alig mérhető galaktozid kiáramlást tapasztalunk. Ha azonban az energiatermelést valamilyen módon, például nátrium-aziddal gátoljuk, akkor gyors galaktozid-kiáramlást észlelhetünk. A felvétel (influx) sebessége ( $V_{in}$ ) a permeáló vegyület környezetben mért koncentrációjától ( $C_{ex}$ ) függően változik.

$$V_{in} = \frac{V_{in}^{max} \cdot C_{ex}}{K_m + C_{ex}}$$

Az egyenletben szereplő  $K_m$  az enzimek Michaelis-állandójához hasonlóan azt a szubsztrátum koncentrációt jelenti, amely a maximális felvételi sebesség felét eredményezi. A  $V_{in}^{max}$  a permeáló anyag telítési koncentrációjánál mért felvételi sebesség. — A tényleges felvétel egyenlő a felvétel és a kiáramlás (efflux) különbségével. Az efflux, a kiáramlás sebessége függ a kérdéses vegyület ( $C_{in}$ ) sejten belüli koncentrációjától; a  $K_{ex}$  a kilépési sebességi állandó. A tényleges nettó felvétel tehát

$$\frac{\Delta C_{in}}{\Delta t} = \frac{V_{in}^{max} \cdot C_{ex}}{K_m + C_{ex}} - K_{ex} \cdot C_{in}$$

A kiáramlás végbemehet aspecifikusan, diffúzió útján a membrán pórusain keresztül, de végbemehet a szerkezeti hasonlóság alapján bizonyos homológ vagy heterológ transzport-rendszerek igénybevételével is. Példaként hasonlítsuk össze a  $\beta$ -galaktozid transzportmechanizmus jellemző adatait.

	Tiometilgalaktozid	Tiodigalaktozid	Tiofenilgalaktozid	Laktóz
$K_M$ (mol.liter <sup>-1</sup> )	$5 \times 10^{-4}$	$2 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-4}$	$7 \times 10^{-5}$
$V_{in}^{max}$ ( $\mu$ mol.g <sup>-1</sup> perc <sup>-1</sup> )	148	20,4	86	158
$K_{ex}$	0,82	0,59	2,7	-
Maximális $C_{in} / C_{ex}$	65	400	26	1950

Ez a galaktozid-permeáz laktózt tartalmazó táptalajon növekedő *Escherichia coli*-ban képződik, mégpedig koordináltan a laktózt bontó  $\beta$ -galaktozidázzal és egy transzacetilázzal együtt. A három fehérje képződése nem csak laktózzal (valójában allo-laktóz), hanem más, nem hidrolizálható galaktoziddal – például metil- $\beta$ -tiogalaktóziddal – is serkenthető. Ennek hatására a transzportmechanizmusban résztvevő fehérjék mennyisége jelentős mértékben fokozódhat. Egyedüli szénforrásként laktózt tartalmazó táptalajon az aktív centrumban szabad SH-csoportokat tartalmazó, 30 kDa méretű,  $\beta$ -galaktozidot kötő fehérje mennyisége az alapszintről (sejtenként 8-10 permeáz) akár ezerszeresére is nőhet. Az ilyen körülmények között növekedő sejtek membránjában kb. 8000 permeáz található; ez a sejt összfehérje tartalmának 0,35 %-a.

Ez a fehérje a membránból detergens kezeléssel kinyerhető, majd a membránból kimosztott fehérjék elegyből kromatografálással lehet tisztítani. Negyedszázaddal ezelőtt az irodalmi adatok szerint a  $\beta$ -galaktozid permeáz előállításakor éppen ezt a jelenséget, a fehérje  $\beta$ -galaktozidot kötő képességét és a kötés specificitását hasznosították. Első lépésként nagy mennyiségű  $\beta$ -galaktozid jelenlétében a membránból kimosztott fehérjék szulfhidril csoportjait N-etil-maleinimiddal inaktívtették. A  $\beta$ -galaktozid permeáz aktív centrumában levő SH-csoportokat az oda kötődő galaktozidmolekula megvédte. Ezt követően felszabadították a transzportfehérje aktív központját galaktozidmentes körülmények között. A szabaddá vált SH-csoportokat izotóppal jelölt N-etil-maleinimiddal inaktívtették. Ezzel a művelettel sikerült specifikusan jelölni a galaktozidot kötő fehérjét, ami megkönnyítette a kromatografálással való tisztítását és homogén formában való előállítását

## Foszfoenol-piroszólósvától függő foszfoferáz rendszer (PTS)

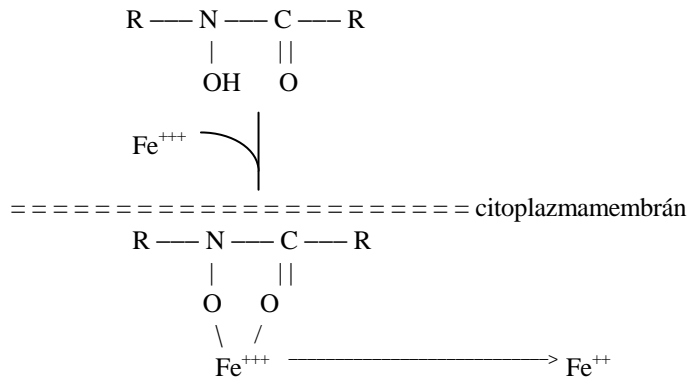
A szénhidrátlebontás első lépéseként hexózfoszfát képződését katalizálja a mono-szacharidok felvételére szolgáló mechanizmus. *Escherichia coli* ilyen módon veszi fel a glükózt, fruktózt, mannózt és redukált származékaikat, a szorbitot és a mannitot. Ezek a transzferázok általában specifikusan egy-egy cukor felvételére szolgálnak.

A foszfoferáz rendszer valójában egy enzimkomplex, amely a membránba kötött lipid függő transzfer-fehérjéből és a hordozó fehérje regenerálását biztosító enzimekből áll. A membránban elhelyezkedő (E-II) hexóz-foszfoferáz fehérje két alegységből tevődik össze. Az egyik a cukorra specifikus "A" fehérje, a másik a lipidhez kötődő "B" fehérje. Ez utóbbi miatt a transzferáz általában detergenssel lehet kimosztítani a membránból. A két alegységből álló fehérje *in vitro* csak foszfátidil-glicerin és kétértékű ionok jelenlétében mutat hexokináz aktivitást. *In vivo* a foszforilezett fehérje (enzim) a membrán külső oldalán reagál a hexózzal, mégpedig annak C-6 hidroxil csoportját foszforilezi. A képződő cukorfoszfát azután a membrán belső oldalán hagyja el a most már defoszforilezett transzportfehérjét. A transzportfehérjét a citoplazmában működő, legkevesebb három fehérjéből álló, hidrofób enzimkomplex regenerálja, azaz újra foszforilezi. Az első hidrofób jellegű, két alegységet tartalmazó, 140 kDa méretű dimert közvetlenül a foszfoenolpiroszólósvat foszforilezi. A foszforilezett (E-I) dimerről a foszfátcsoport átmenetileg egy viszonylag kisméretű (hőálló HPr) fehérjére kerül, amely foszforilezi a három alegységet tartalmazó, 36 kDa méretű (E-III) fehérje hisztidint tartalmazó aktív szakaszát. Ez a foszforilezett fehérje regenerálja végül a membránba rögzített (E-II) hexóz-permeáz.

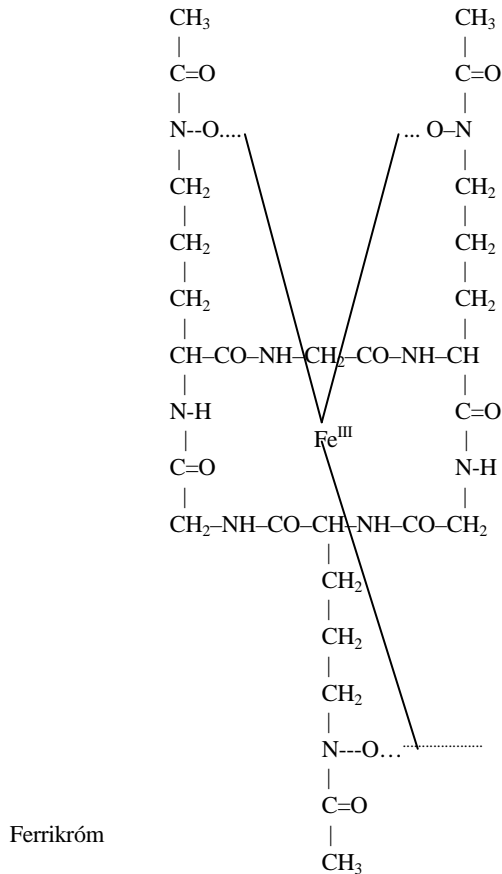
Abban az esetben, ha a tápközegből elfogyott a felvehető hexóz, akkor az előbb tárgyalt regeneráló rendszer az inaktív adenilát-cikláz foszforilezi és ezáltal aktiválja. Ennek eredményeként megnő a sejtben található cAMP mennyisége, amely a CAP-hez kötődve az addig katabolikusan represszált enzimeknek, például az amiláznak a képződését elindítja, de lehetővé válik a tápközegben jelenlevő energiaforrásként hasznosítható vegyületek (laktóz, arabinóz, stb.) felvételére és lebontására alkalmas enzimrendszerek képződése is. A hexóz-foszfoferáz rendszer tehát foszfoenol-piroszólósvat terhére biztosítja a mikroba hexózfelvételét. Spontán kiáramlás nem csökkenti a transzport határfokát, mivel a képződő glükóz-6-foszfát számára a membrán gyakorlatilag átjárhatatlan. Az a tény, hogy a hexóz-permeáz regeneráló rendszernek az első enzime is hidrofób jellegű, azt sugallja, hogy eredetileg az egész rendszer membránhoz kötve működött, és csak később került egy része a citoplazmába. Ma is élnek olyan prokarióták, például a *Rhodobacteriaceae* család tagjai, amelyekben az egész permeázrendszer a membránban helyezkedik el, és a membrán belső oldalán elhelyezkedő (E-I) fehérjét foszforilezi a citoplazmából származó foszfoenol-piroszólósvat.

### Az ionok felvétele

A magnézium-, kálium- és foszfátionok a sejtben belül viszonylag magas koncentrációban vannak jelen annak ellenére, hogy ezek az ionok a környezetben kis mennyiségben fordulnak elő. Elektromos töltésű, hidratburokkal körülvett ionok szállítását a hidrofób membránon keresztül speciális transzfermechanizmusok segítik. Az egyik elterjedt típus kémiai szerkezetéből adódóan ioncsatornát képez a membránon keresztül. A másik típus viszont elmozdulva a membránban, formálisan átszállítja az iont a membrán egyik oldaláról a másikra. Ezeknek a kifelé lipofil molekuláknak a belsejében hidrofób fészkek találhatók. A fészkekbe nyúló oxigénatomok koordinatív kötést létesíthetnek az ionnal. Szelektivitásukat az ionfészkek mérete adja. A kálium ionrádiusza 0,134 nm, a nátriumé viszont csak 0,095 nm; ennek ellenére, mivel a nátrium sokkal erősebben köti a vizet, mint a kálium, a kialakuló hidratburok mérete miatt a nátrium nem fér el ott, ahol a vizet gyengén kötő káliumion még elfér. A vas felvételének elősegítésére külön vegyületsorozat működik a mikrovilágban, ezek a sziderokromok. A vas az élő szervezetben az életfontosságú elektronáramlásban játszott szerepe miatt nélkülözhetetlen fémion. Nem véletlen, hogy a vas felvételére speciális mechanizmus alakult ki az élővilágban. Az élet megjelenését követően a redukáló körülmények között nem jelentett nagyobb problémát az óstenger vizében bőségesen előforduló ferro-ionok felvétele. Alig egy milliárd év elteltével azonban megjelentek a fényenergiát hasznosító cianobaktériumok és tevékenységük eredményeként a redukáló környezetben megjelent az oxigén. Néhány százmillió év alatt a képződő oxigén a tenger vizében oldott ferro-ionokat eloxidálta, és a képződő ferri-hidroxid igen gyenge vízoldhatósága miatt vastag üledékként a tenger fenekére került. A túlélés előfeltételeként ezért olyan vegyületek jelentek meg, amelyek ilyen körülmények között is biztosítani tudták a szükséges vasmennyiség begyűjtését. — Elvileg a citromsav erre a célra alkalmas kelátképző vegyület lenne, de a vas-citrát közvetítésével folyó felvétel általában nem elégíti ki a mikroba igényeit. A gombákban és a baktériumokban legelterjedtebb karriereként a ferrikróm, egy ferrihidroxamát-hexapeptid fordul elő, amely gyűrűs szerkezetéből következően könnyen szállítja a vasionokat a hidrofób membránban. A transzport reakcióval a citoplazmába került ferri-hidroxamát a belső redukáló környezetben ferro iont enged el



Az *Escherichia coli* külső membránjában ferricitrát receptorokat, a belső membránban pedig a ferricitrát permeáz működését igazolták ugyan a vizsgálatok; mégis a mikrovilágban olyan speciális vasfelvételre szolgáló polimerek képződtek, amelyek a környezet vastartalmának a csökkenése esetén egyre nagyobb mennyiségben képződve látják el élettani szempontból nélkülözhetetlen feladatukat. Hasonló feladatot lát el más baktériumoknál, például a *Salmonella* genusban egy catechol származék, az enterobaktin; az *Aerobacterium* nemzetségben az aerobaktin, vagy a *Mycobacterium*-okban előforduló mikobaktin.

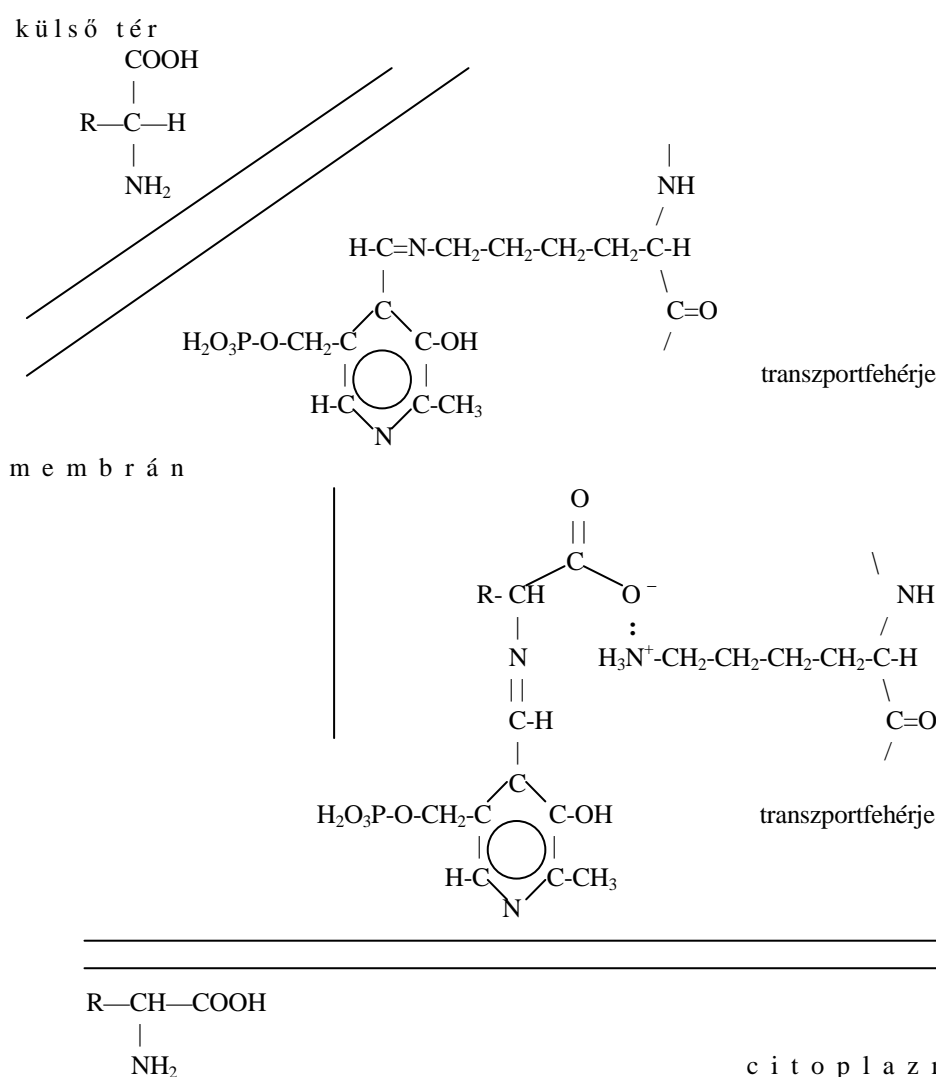


A vasfelvétel élettani jelentőségére utal, hogy vasmegkötő kelátképzőkkel, hidroxikinolin-származékokkal, illetve működésképtelen sziderokróm analógoknak tekinthető antibiotikumokkal a bakteriális fertőzések leküzdhetők. A csatornaképző transzfervegyületek hatékonyabbak, és a hőmérséklet sem befolyásolja a működésüket. A hordozó típusú transzferázok teljesítőképessége a membrán fluiditására érzékeny, a hőmérséklet csökkenésével megmerevedő hidrofób rétegben ugyanis nem képes mozogni a hordozó fehérjemolekula. Ismeretesek olyan mutánsok, amelyek magas ionkoncentrációt igényelnek a növekedésükhöz, a belső káliumszint fenntartásához. Ezek saját erőből nem képesek megtartani az életműködés igényelte magas belső káliumszintet. Normál esetben a káliumfelvétel nem függ a környezet káliumszintjétől, ezért lehet a szferoplasztok stabilizálására kálium-kloridot használni szacharóz helyett.

## AMINOSAV-TRANSZFER

Az aminosav-felvételben résztvevő fehérjék specifitása meglehetősen széles. Az elágazó szénláncú aminosavak (leucin, izoleucin, valin) felvételét például egyazon transzportmechanizmus biztosítja. A membránban előforduló, ilyen feladatot ellátó rendszerek teljesítőképessége bőven kielégíti a fehérjeszintézis igényeit, mivel rövidebb oligopeptidek felvételét is segíteni tudják. Aminosavfelvételre eddig kilencféle fehérjét találtak a mikrobákban. Sok esetben az aktív kötőhelyen a transzportfehérje lizin oldalláncának ε-aminocsoportjához kapcsolódó piridoxál-foszfátot találunk, amellyel az aminosav a transzport idejére Schiff-bázist alkot. Az érdekesség az, hogy olyan mikroorganizmusok membránjában is előfordulnak ezek a fehérjék, amelyek a természetes élőhelyükön sohasem találkoznak aminosavakkal. (például *Thiobacillus neopolitanus*)

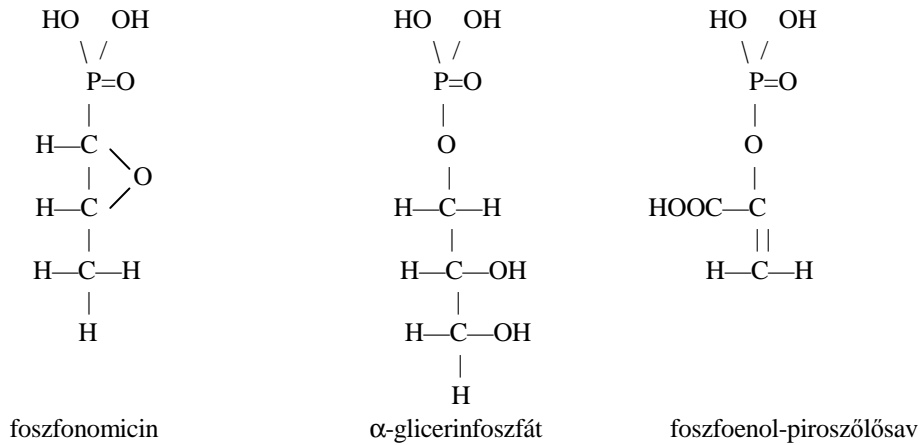
### Aminosavfelvétel a környezetből



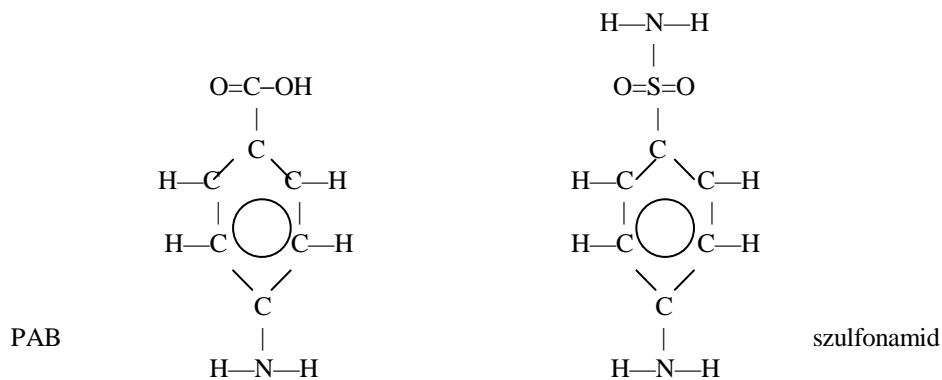
Ha valamelyik aminosav transzportmechanizmusa genetikailag sérült, akkor a kazamin, tripkazin (részlegesen hidrolizált kazein) vagy pepton előnyösebben használható táptalajalkotóként, mert a benne előforduló oligopeptidek valamelyike nagy valószínűséggel tartalmazza azt az aminosavat, amelynek a transzportmechanizmusa esetleg nem működik. Az oligopeptideket a terminális aminosavra specifikus transzferrendszerek segítik át a membránon. Laboratóriumi körülmények között gyakran a transzportmechanizmusok spektrumának szélességéből következő kompetitíven gátló jelenségek észlelhetők. Nagy mennyiségű argininnel például sikerrel lehet akadályozni a lizin felvételét. Természetes körülmények között azonban nem fordulhat elő a fehérjeszintézis leállása aminosav hiány miatt, ha a környezetben felvehető aminosav van. A transzportfolyamatban közreműködő fehérjék sok szempontból az enzimekhez hasonlóak. A szállított anyagra specifikusak és ennek megfelelően specifikusan gátolhatók.

Képződésük sok esetben indukálható, illetve derepresszáható. Szerkezetileg hasonló anyagok (analógok, illetve homológok) átvitelére is alkalmasak, mégpedig a hasonlóságuk mértékétől függően.

A mikroorganizmusok számára mérgező vegyületek, inhibitorok, antibiotikumok felvétele általában valamelyik transzferfehérje eredeti szubsztrátumához való hasonlóság miatt válik lehetővé. A foszfonomicint például (foszfoenol-piroszőlősav-analóg) az  $\alpha$ -glicerinfoszfát-transzferáz segíti át a membránon.



A szulfonamidokat a p-aminobenzoészav (PAB) transzfermechanizmusa juttatja a baktériumokba.



## A SEJTFAL FELÉPÍTÉSE

A hálózatos szerkezetű, 1 nm pórusméretű sejtfal 10 kDa moltömegig átjárható. A prokariota és eukariota szervezetek morfológiai képét meghatározó sejtfal szerveződésében azonban alapvető eltérés mutatkozik, sőt ebből a szempontból a prokarioták is két csoportra az eubaktériumok és az ősbaktériumok csoportjára oszthatók. Ezen túlmenően Gram-pozitív és Gram-negatív festődésű szervezeteket különböztethetünk meg (2701. fejezet).

A sejtburkok vizsgálata céljából a sejteket mechanikusan el kell roncsolni, majd centrifugálással elválasztani a sejt beltartalmától a vízben nem oldódó sejtfalat és membránt. Ebből a frakcióból detergens használatával a lipoprotein-membrán alkotórészei könnyen elkülöníthetők. Gram-pozitív festődésű eubaktérium esetében a visszamaradt sejtfal (muropeptid murus=fal), zömmel peptidoglükán, amely nagyobb mennyiségű teichoinsavat is tartalmaz. A Gram-negatív sejtburkok peptidoglükán-tartalma a Gram-pozitív sejtfalra jellemző 30-60 nm falvastagsággal szemben lényegesen vékonyabb, 2-3 nm vékonyságú réteget alkot a citoplazmamembrán és a külső membrán között.

Gram-negatív sejtekből a sejtfalfrakció előállítása több munkát igényel, mivel a külső membrán kémiaiilag, peptidláncokkal kötődik a sejtfalhoz. A lipoproteinek egy része eredetileg a mureinréteg és a membrán között alakít ki tripszines kezeléssel megszüntethető kapcsolatot. A mechanikusan elroncsolt sejtekből nyerhető membrán és sejtfaelemeket tartalmazó frakcióból - a detergenssel végzett kezelést követően - lipidoldó szerekkel kell eltávolítani a sejtfal frakciót szennyező lipoprotein maradványokat.

A sejtfal felépítését vizsgálva megállapítható, hogy az eubaktériumok mindkét csoportjában azonos az 1-4 glikozidos kötéssel kapcsolódó glükánkopolimer. A muraminsavhoz kapcsolódó peptidlánc elvi felépítése is azonos, amennyiben a tejsavhoz kapcsolódó L-alanint minden esetben D-glutaminsav követi, a keresztkötés kialakítására pedig minden esetben valamilyen diaminosav (lizin, vagy diaminopimelinsav) ad lehetőséget.

### A PEPTIDOGLÜKÁN KÉMIAI SZERKEZETE

Az eubaktériumokból nyert sejtfalkészítmények savas hidrolizátumában két szénhidrát származék, az N-acetil-glükózamin és az N-acetil-muraminsav, (N-acetil-glükóz-amin-3- O-D--laktileter) és tetrapeptid-egységenként néhány aminosav (L-Ala, D-Glu, L-Lys, mezo-DAP, D-Ala) jelenléte igazolható. A sejtfal alkotórészeként egyes rendszertani egységekben jelentős mennyiségben más szénhidrátok is előfordulnak, általában oligomerek hálózatát alkotva a fal külső oldalán:

*Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium* fajokban ramnóz, glükóz, galaktóz, és mannóz fordul elő. *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* fajokban arabinóz, glükóz, galaktóz és mannóz található. *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* fajok sejtfalában glükóz, galaktóz és mannóz jelenlétét igazolták.

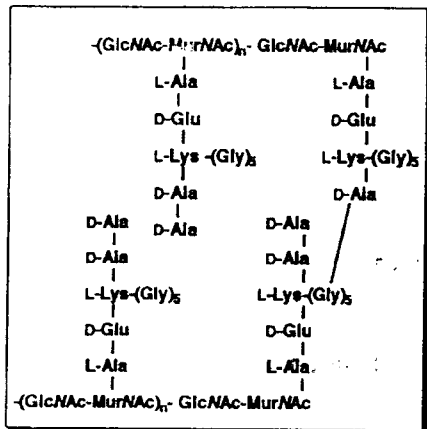
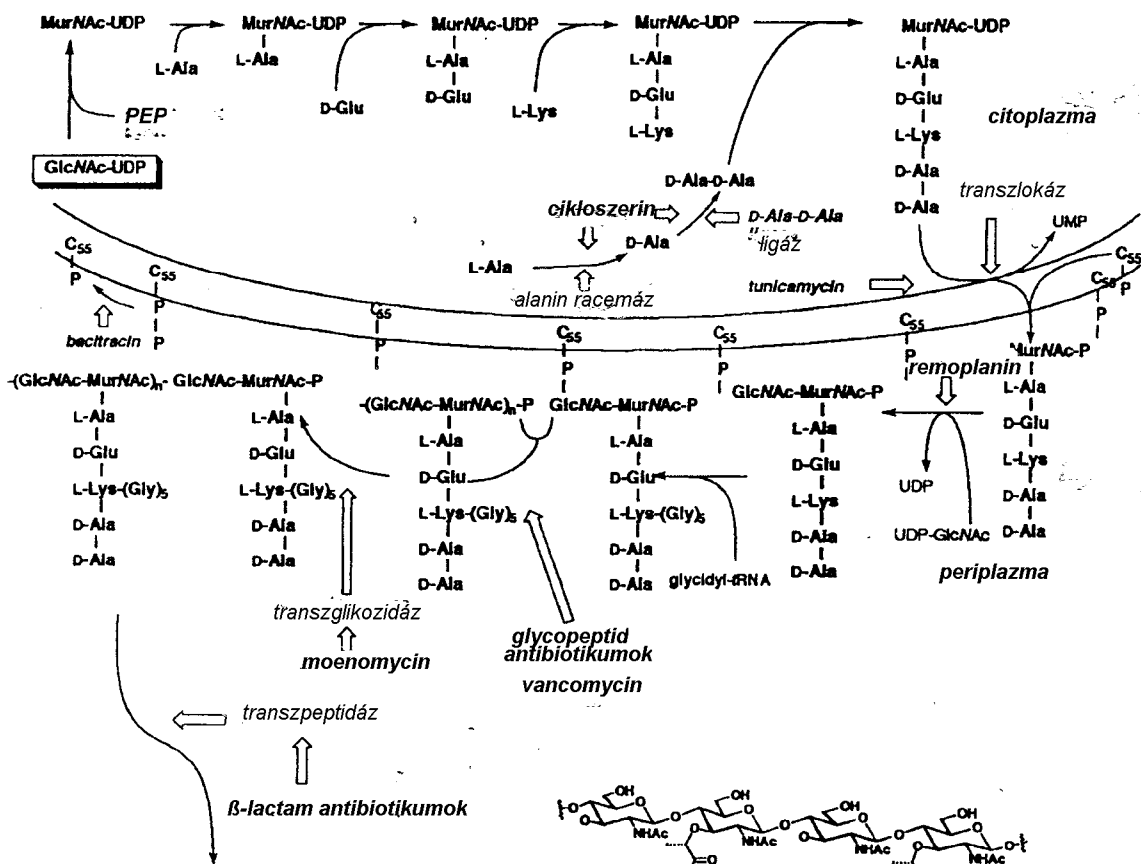
A glükózamin-kopolimer építőelemei  $\beta$ -1,4-glikozidos kötéssel (kitin is  $\beta$ -1,4) kapcsolódnak. A sejtfal három irányban kiterjedve épül. Az egymás fölött elhelyezkedő poliszacharidláncok között a kapcsolatot a peptidláncok alakítják ki. A peptidláncok legalább 90 %-a részt vesz a kapcsolat kialakításában. A sejtfal redukáló aktivitásából, a terminális redukáló csoportok számából a poliszacharidláncok hosszára (80-140 egység) következtethetünk.

Amíg a két cukorszármazék az ősbaktériumokat kivéve minden baktérium sejtfalában jelen van, addig az aminosavak mennyisége és minősége az egyes baktériumcsaládokban, illetve nemzetségekben rendszertanilag is értékelhető eltérést mutat.

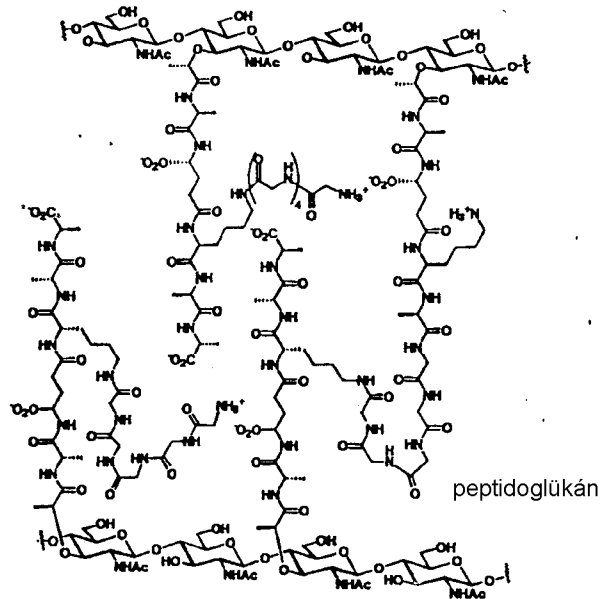
A Gram-pozitív *Staphylococcus* nemzetség sejtfalában N-acetil-glükózaminil-N-acetil-muramil nonapeptid egységek ismétlődnek. A cukropolimerhez a D-tejsavon keresztül L-Ala-D-Glu( $\alpha$ -amid)-L-Lys-D-Ala tetrapeptid kapcsolódik. A D-glutaminsav *izo*-helyzetben vesz részt a peptidkötés kialakításában! Az egyes tetrapeptidláncok között egy-egy oligopeptid (pentaglicin) létesíti a kapcsolatot.

Más esetben a glicil pentapeptid helyett az L-Ala-L-Ala-L-Ala-L-Thr, Gly-Gly-Gly-L-Ser-L-Ser, L-Ser-L-Ala, L-Ala-L-Ala, vagy D-Asp-L-Ala oligopeptid alakíthatja ki a kapcsolatot. Egyes esetekben a D-alanin és a D-glutaminsav között diaminosavak: D-ornitin, D-diaminovajsav, illetve glicil-L-lizin dipeptid adja a kovalens kötést. Egyes Gram-pozitív baktériumokban a D-glutaminsavamid helyett D-glutaminsav illetve D-glutamil-glicin fordul elő. L-lizin helyett (bifunkciós molekulaként) mezo-diaminopimelinsav(DAP), LL-diamino-adipinsav, L-ornitin, L- $\alpha,\gamma$ -diaminovajsav, L-homoszerin vagy L-glutaminsav fordulhat elő.

A két tetrapeptidlánc közvetlenül is kapcsolódhat. A Gram-negatív *Escherichia coli* esetében például diaminopimelinsavhoz közvetlenül kapcsolódik a szomszéd lánc végén elhelyezkedő D-alanin. Ez a különbség a sejtfal tömörségében jelentkezve, teichoinsav nélkül, csekélyebb rétegvastagság mellett is kellő szilárdságot biztosít a mikroba számára.



keresztkötés a peptidoglükán sejtfaiban



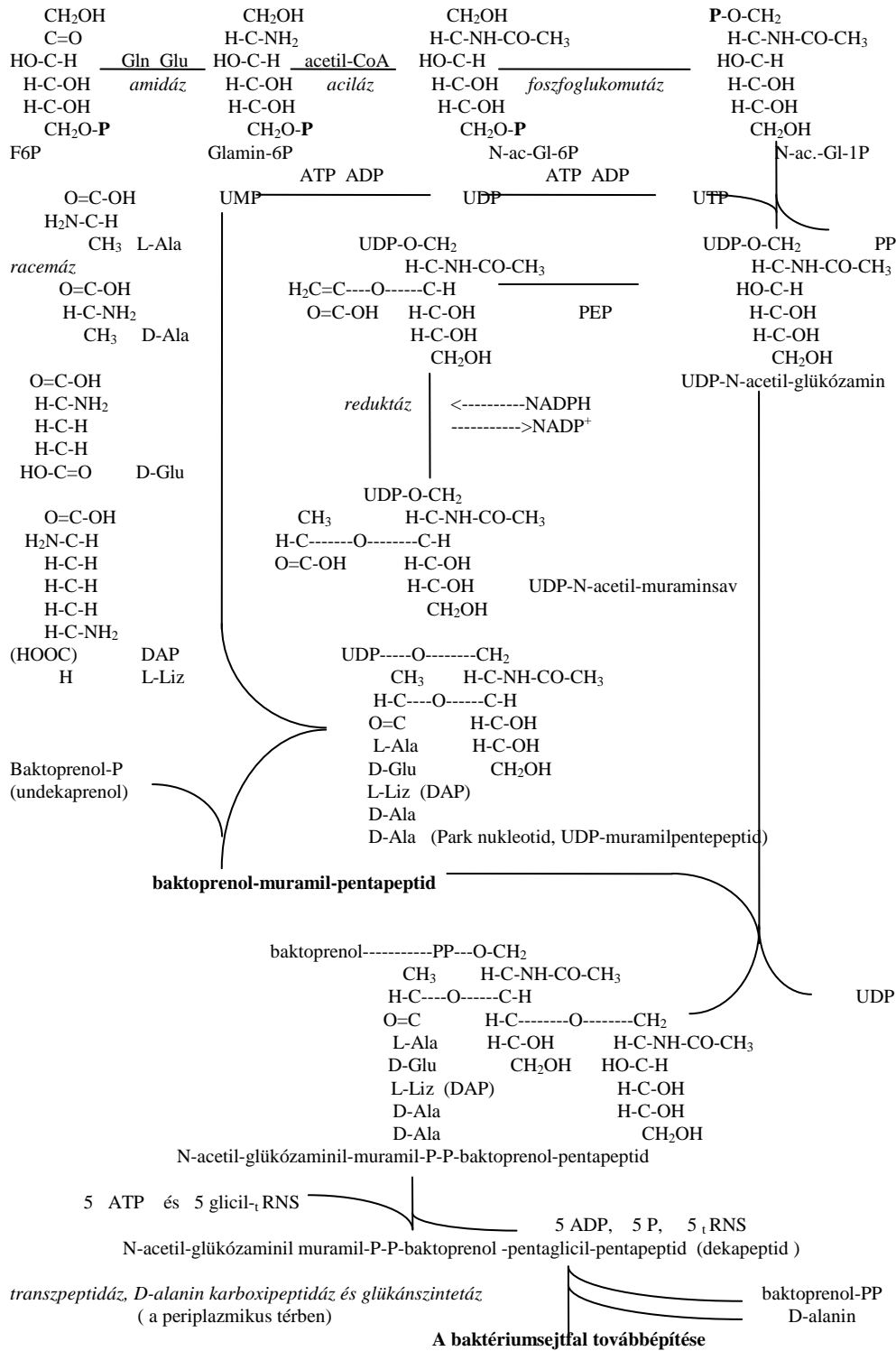
## A PEPTIDOGLÜKÁN SEJTFAL KÉPZŐDÉSE

A sejtfal építőelemeit a sejt plazmában működő enzimrendszerek szintetizálják nem csekély energia felhasználásával. Az építőelemek összekapcsolása viszont a citoplazma-membránon kívül történik, mégpedig minimális energia- és anyagvesztés mellett.

Az aminocukor-származékok glükóz-6-foszfátból fruktóz-6-foszfáton keresztül a glutamin amidcsoportját hasznosítva készülnek. Az uridilfoszfát-származék képződését megelőzi egy izomerizálási reakció, amelyben a foszforsavészter csoport a C-6-ról a C-1-re vándorol. Muraminsav-képződéskor az N-acetil-glükózamin uridil származéka reagál a foszfoenol-pirofoszfáttal. A képződő enol-piroszőlősavéért egy NADPH-függő reduktáz rendszer alakítja tejsav-éter származékká (UDP-N-acetil-muraminsav), amelynek a karboxil csoportjához kapcsolódnak meghatározott sorrendben egy-egy ATP felhasználásával a pentapeptidet felépítő aminosavak (*Staphylococcus* esetében L-Ala, D-Glu(izo), L-Lys és D-Ala-D-Ala dipeptid). A bioszintézis utolsó lépései a citoplazmamembrán belső oldalán folynak, ahová a készülő építőelemet, az N-acetil-muramil-pentapeptidet a membránba ágyazott izoprenil-foszfát (undekaprenil-alkohol foszforsavésztere) rögzíti. A rögzítés energiát alig igényel, mivel az uridil-difoszfát-N-acetil-muramil-pentapeptid pirofoszfátkötése hasad el, és az UMP szabad állapotba válásával egyidőben az építőelem ugyancsak pirofoszfátkötéssel kapcsolódik az izoprenil-foszfát membránból kinyúló foszforsav maradékához. Ezután egy glikozilező enzim UDP felszabadulása mellett N-acetil-glükózamint kapcsol  $\beta$ -1-4 helyzetben a muramilpentapeptid cukorkomponenséhez.

A következő lépésben a pentapeptid savanyú karakterét csökkentendő a D-glutaminsav  $\alpha$ -karboxilcsoportjának amidálása következik. Ezt követi a glicin-pentapeptid lánc kiépítése. A beépítendő glicin molekulákat a decapeptid szintézishez egy különleges, a riboszómális fehérjeszintézishez nem használható glicil-tRNS szállítja. Ez a megoldás a fehérjeszintézist függetleníti a sejtfalszintézis anyagforgalmától. (*In vitro* kísérletekben a riboszómális peptidszintézisben működő glicil-tRNS is felhasználható a decapeptid kialakításához.)

## PEPTIDOGLÜKÁN SEJTFAL ÉPÍTŐELEMÉNEK FELÉPÜLÉSE A CITOPLAZMÁBAN



## A FALSZINTÉZIS SEJTHÁRTYÁN KÍVÜL FOLYÓ LÉPÉSEI

A membrán külső oldalán található *glikozilező-enzim* a dekapeptid muraminsav végét,  $\beta$ -1,4 kötésben a már meglevő peptidoglikánváz terminális glükózamin végéhez rögzíti.

A kapcsolat közben szabaddá váló hordozó (undekaprenil-karrier) vegyület pirofoszfát végének regenerálását egy membránhoz kötött *foszfatáz* végzi. (Ennek az enzimnek a működése gátolható bacitracinnal!) A szabaddá váló undekaizoprenil-foszfatáz visszakérülve a membrán belső oldalára egy újabb, éppen készülő sejtfa építőelemmel lép reakcióba, majd az előbbi folyamat megismétlődik.

A sejtfa peptidvázának a továbbépítését a citoplazma membrán külső oldalán működő *transzpeptidáz* (karbozipeptidáz, másnéven  $\beta$ -laktám kötő fehérje) végzi. Ez az enzim a terminális D-alanin eltávolításával szabaddá váló karboxil csoportot a már meglevő peptidoglikán vázon lévő glicil-oligopeptid szabad aminocsoportjához kapcsolja, miközben a D-alanin visszamarad az extracelluláris közegben. A transzpeptidáz reakcióban a nonapeptid átmenetileg acilezi az enzimet, majd erről az átmenetileg acilezett enzimről kerül a nonapeptid az akceptor csoportra, esetünkben a glicin N-terminálisra.

A penicillin molekula kémiai szerkezete a  $\beta$ -laktám gyűrű által merevítve éppen a muramil-pentapeptid terminális D-Ala-D-Ala dipeptid szerkezetéhez hasonlít. Ezért nem meglepő, hogy a penicillin molekula bejuthat a D-Ala-D-Ala transzpeptidáz aktív centrumába, ahol a felnyíló laktám reakcióképes karbonil csoportja irreverzibilisen acilezi az enzimet. A sejtfa felépítéséhez feltétlenül szükséges enzim inaktiválása természetesen akadályozza a peptidoglikán sejtfa továbbépülését, miközben a mikroba egyéb életfolyamatait meghatározó enzimrendszerek zavartalanul működnek. A sejttömeg gyarapodása miatt az egyre vékonyodó sejtfaon keresztül a sejtfa alkotóelemei, különböző méretű UDP-muraminsav származékok (Park-nukleotidok) kerülnek a környezetbe. A sejt térfogatának növekedése végül a citoplazma-membrán szétszakadásához, a baktérium pusztulásához vezet. (A sejtfa szerkezetéről szerzett ismereteinket — mint látható — valójában a penicillin hatásmódjának a vizsgálata gazdagította.)

A sejtfa szintézis ismertetett mechanizmusa jól példázza a gazdaságosság elvének feltétlen érvényesülését a kialakult bioszintetikus folyamatban. Az energiaigényes körfolyamatok a citoplazmában játszódhatnak le, ahol az energiatárolók feltöltésére, az ATP és az UTP regenerálására lehetőség adott. A membránon kívül az építőelemek aktivált formában jelennek meg, és így azok minden további energia befektetése nélkül felhasználhatók a falszintézis folyamatában.

## A PEPTIDOGLÜKÁN SEJTFAL NÖVEKEDÉSE

A sejtfa növekedése a sejt osztódása előtt a Gram-pozitív mikrobákban az ekvatoriális zónában következik be, ahol azután a válaszfal is kialakul. Ezt bizonyítja az izótóp alkalmazásával kapott eredmény; Mivel az öreg falrész több generáción keresztül érintetlenül megmarad a szaporodó sejtek között a jelzett sejtek száma nem változik. — Ezzel szemben a Gram-negatív baktériumok sejtfa diffúz módon nő. Jelzett diaminopimelinsavat adva a növekedő tenyészethez, a jelzett vegyület diffúz módon oszlik el a sejt felületén. A külső membrán egyidejű képződése is igényli azt, hogy a sejtfa minden irányban egyidejűleg növekedjen.

Az *Escherichia coli* plazmolízisekor (a sejteket két percig 20 %-os szacharóz-oldatban tartva) a sejtplazma összehúzódik. Az elektronmikroszkópos felvételeken ilyenkor az összehúzódó citoplazma membrán és a sejtfa között összekötő fonalakat lehet látni. Feltételezhetően ezek csatornáként szállítják a külső membrán építőelemeit a citoplazmából a felhasználási helyükre.

## TEICHOINSAV A PEPTIDOGLÜKÁN SEJTFALBAN

Gram-pozitív baktériumok sejtfaiban előforduló másik polimer a teichoinsav, egy polialkohol-foszforsav-diészter kopolimer, amelyhez cukrok, aminocukrok, kolin vagy D-alanin kapcsolódhat.

A polialkohol leginkább glicerin vagy ribitol. A mennyisége — fajok szerint változóan — néhány százaléktól akár a sejtfa 50 %-át is elérheti. Bioszintézise citidil-pirofoszforil-ribitolból illetve citidil-pirofoszforil-glicerolból egy poliizoprenol hordozó (karrier) segítségével a membrán közelében folyik. A kopolimer mérete (tagszáma), pontos szerkezete, - mivel könnyen hidrolizál - nem ismert. Antigén tulajdonságát a megtámadott szervezet védekező mechanizmusa és a taxonomusok egyaránt hasznosítják.

Teichoinsav a peptidoglikán váz hézagaiban helyezkedik el és foszforsavval kapcsolódik a muraminsav C<sup>6</sup> hidroxil csoportjához. Esetenként mannóz-glükóz diszacharidon keresztül jön létre a kapcsolat (J. Bact. 158:990). Más esetben a membrán lipidösszetevőjéhez kapcsolódik (BBA. 472:1). Ez utóbbi vegyületcsoportot lipoteichoinsav néven ismeri a szakirodalom. A *Bacillus subtilis* sejtfaiban foszfáthiányos táptalajon teichuronsav képződését észlelték; a polimer ez esetben uronsav egységekből épült fel.

## PEPTIDOGLÜKÁN SEJTFAL LEBONTÁSA

A sejtfal lebontására szolgáló enzimek széles körben elterjedtek. Maguk a baktériumok különböző, általában fajspecifikus hasító enzimeket, *autolizineket*, *peptidoglikán-hidrolázokat* termelnek. Ilyenek a peptid keresztkötéseket bontó *endopeptidázok*, a tejsav-L-alanin kötést hasító *specifikus amidázok*, illetve a poliszacharid lánc kötéseit bontó *glikozidázok*, az endo *N-acetil-muramidázok* és endo-*N-acetil-glikózaminidázok*. Ezek az enzimek fontos élettani szerepet játszanak a prokarióta szaporodásakor, illetve a spóráképzéskor, spóracsírázáskor.

Peptidoglikán fal lebontására specifikus enzimek magasabb rendű lényekben, így az emberi könnyben is előfordulnak, ilyen például a *lizozim*, amely a glikozidos kötéseket bontva a gazdaszervezet baktériummal szembeni védelmét szolgálja. (Ideális lizozim forrás a tyúktojás!)

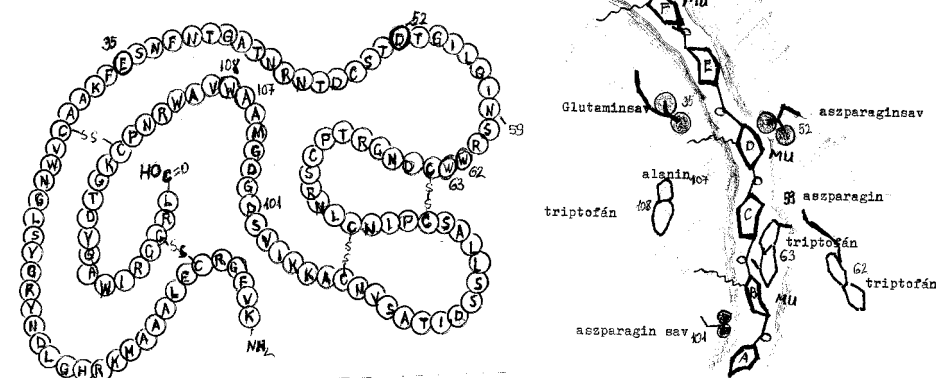
A lizozim alakilag globuláris ovoid fehérje (4 x 3 x 3 nm). A 127 aminosavból álló 14,6 kDa tömegű, négy diszulfid kötéssel merevített enzim kémiai szerkezete jól ismert. Négy  $\alpha$ -hélix szakasz mellett több  $\beta$ -hélix szakasz fordul elő benne, amelyek hajtúszzerűen meghajolva redőzött szerkezetet alakítanak ki. A fehérjemolekula belső része apoláros.

Az N-acetil-glikóz-amin-N-acetil-muraminsav polimer - a lizozim külső felületén található árokba fekszik. Az enzim - amelynek működőképességéhez legalább hattagú polimer szükséges - a negyedik és ötödik tag között hidrolizálja a muraminsav és glükózamin közötti  $\beta$ -1,4-glikozidos kötést. A hidrolitikus folyamat első lépéseként az árokban fekvő polimer negyedik tagja félszék konformációban kimered, ami kedvez a C<sup>1</sup>-karbonium kialakulásának. Az enzim Glu-35 tagja végeredményben apoláros közegben van, és így a glikozidos kötés oxigénje közelébe kerülő proton hasítja a kötést. Kialakítja a karbónium-iont, ami a leszakadt cukorrészek távozása után a vízben levő OH-ionnal reagálva a visszamaradt négytagú fragmentum távozását is lehetővé teszi. A karbónium-ion átmeneti stabilizálásában fontos szerepet játszik a poláros környezetben elhelyezkedő Asp-52 disszociált karboxilcsoportja, miközben a Glu-35 újra protonálódik.

A szubsztrátum megfelelő felfekvését a hexózpólimer befogadására alkalmas árok mérete és alakja egyértelműen meghatározza. A harmadik komponens ugyanis csak glükózamin lehet, mivel nincs hely a tejsavéter számára. A lizozim hatásosságát azonban a baktériumsejtfal kémiai szerkezete alapvetően befolyásolja. A tenyésztő táptalaj glicin tartalma megkönnyíti az enzim működést, mert a tetrapeptideket összekötő glicinpeptid tagszáma növekedhet, ami lazítja a fal szerkezetét. Ezzel elősegíthető például a saválló festődésű *Mycobacterium* törzsek protoplasztálása.

A Gram-negatívan festődő mikrobák sejtfalának lebontására közvetlenül nem használható a lizozim, mert a kalcium-ionokkal stabilizált külső membrán lipopoliszacharid és lipoprotein rétege miatt az enzim nem képes megközelíteni a lebontandó sejtfalat (glükán-polimert). Kelátképzőkkel (pl. EDTA) való kezeléssel a kalciumionok eltávolítása után a sejtfal az enzim számára megközelíthetővé és ezáltal lebonthatóvá válik. De lebonthatóvá válik a mikroba sejtfala, ha többször egymás után váltakozva fagyaszjtjuk és felengedjük a sejtuszpenziót. Az ismételt jégkristály képződés károsítja a külső membránt.

### A lizozim felületén levő szubsztrátkötő árok



Előnyös a lizozim működése szempontjából a sejtfal peptid tartalmának a csökkenése. Különösen könnyen bontja a lizozim az endospóra falának muraminsavat tartalmazó cortexét. A spórákéreg muraminsav állományának mindössze hat százaléka van keresztkötésben és azt sem oligopeptid, hanem L-alanin kapcsolja. A Gram-pozitív mikrobák lizozim érzékenységét azok teichoinsav tartalma befolyásolja. Zavarja ugyanis az enzim működését a muraminsav C<sup>6</sup>-O-acilezése. (amint tudjuk ide kötődik a teichoinsav.)

## A SEJTFALSZINTÉZIS ZAVARAI

Egyes baktériumok sejtfal nélküli alakját a Lister Intézetre emlékezve L-formának nevezik. Ezeket a szervezeteket 1935-ben Klieneberger-Nobel (Lister Institut in London) a *Streptobacillus moniliformis* tenyészeit vizsgálva fedezte fel. Tápanyagban gazdag körülmények között tenyésztve különleges morfológiai képet mutató telepeket észlelt. Ezek a szervezetek a szokásos módon és sebességgel növekedtek, osztódtak. A morfológiai eltérést az okozta, hogy nem volt sejtfaluk.

A szakirodalom ezeket a szervezeteket - a csoport elsőként felfedezett kórokozójára emlékezve, amelyet egy mellhártyagyulladásban szenvedő szarvasmarhából izoláltak - PPLO (pleuropneumonia-like organisms) néven ismeri. Különlegességük, hogy ezek a mycoplasma csoportba sorolt, sejtfal nélküli szervezetek a baktériumszűrőkön is képesek áthaladni. Szaprofita fajaik a talajból, komposztból, szennyvizekből könnyen izolálhatók. Laboratóriumi munkákhoz a szintetikus táptalajon is jól növekedő *Mycoplasma laidlawii* fajt használják.

A penicillin felfedezése után kiderült, hogy a baktériumok L-formái penicillinre érzéketlenek, ami a penicillin hatásmódját ismerve (a peptidoglikán sejtfal képződését akadályozza) nem meglepő, hiszen sejtfal nélküli lények. Táptalaj módosítással az L-forma visszaalakítható az eredeti sejtfallal rendelkező formává.

Ilyen sejtfal nélküli, sejtfalszintézisben sérült mutánsokat, szaporodásra képes protoplasztoknak, illetve szferoplasztoknak látszó sejteket *Proteus* és *Escherichia* fajok tartós penicillinhatásnak kitett tenyészeitéből is előállítottak. Az így nyert törzseket előszeretettel használják fiziológiai mérések kísérleti anyaiaként.

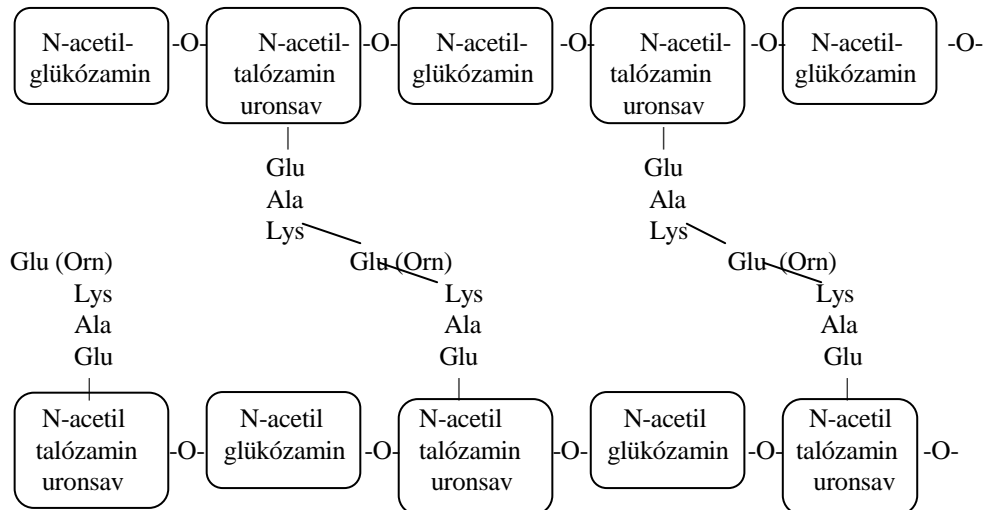
Sejtfal nélküli prokariotákat a növényekben és az ízeltlábúak hemolimfájában is találtak. A fertőzött növény sárgulását okozó MLO (*Mycoplasma like organisms*) szervezet a gazdanövényből származó szövetkultúrán jól tenyészthető. (Botanikusok fitoplazmának nevezik.)

A sejtfalszintézis ellenkező irányú zavara a fokozott sejtfalképződési aktivitás. Ismeretesek olyan *Escherichia coli* mutánsok, amelyeknek a tenyészetében a sejtfalképződés túltengése miatt kromoszóma nélküli, úgynevezett mini sejtek jönnek létre (Proc. Natl. Acad. Sci. 57:321. 1967). Ezek a mini sejtek ép anyagcserével rendelkeznek, kromoszómájuk viszont nincs, ezért osztódni nem képesek. — Jelentőségük a géntechnológiai munkák kiteljesedésével megnőtt. Ezek a mini sejtek ideális akceptorok, mivel a sejtnövekedéshez szükséges enzimeik működőképeseek, azaz a géntechnológus által beléjük juttatott genetikai információ, például valamilyen hibrid plazmid kifejeződéséhez minden lehetőség adott. Ez esetben nem zavar a gazdaszervezet saját kromoszómáján levő genetikai információ sem.

## AZ ŐSBAKTÉRIUMOK PSZEUDOMUREIN SEJTFALA

Nem tartalmaz muraminsavat. A szénhidrátláncokat kizárólag L-aminosavakat tartalmazó oligopeptidek kapcsolják össze. Gram-festődésük alapján az ősbaktériumok is két csoportra, festődőkre és nem festődőkre oszthatók. A festékkötésben mutatkozó különbség azonban megnyugtató módon ez ideig nincs okadatolva.

Az kétségtelen, hogy a Gram-pozitívan festődő metanogén ősbaktériumok sejtfala azonos mennyiségben tartalmaz N-acetil-D-glükózamint és N-acetil-L-talózaminouronsavat. A két komponens glikozidos kötéssel kapcsolódva alakítja ki a szénhidrátpolimert, amit azután L-aminosavakból álló peptidek kapcsolnak össze. Az uronsav karboxilcsoportjához kapcsolódik az L-glutaminsav aminocsoportja. Az L-glutaminsav  $\delta$ -karboxil csoportja egy L-alaninon keresztül kapcsolódik az L-lizin  $\epsilon$ -aminocsoportjához. Ezek a tripeptidek kapcsolódnak össze L-glutaminsav, illetve L-ornitin segítségével.



A sejtfalban jelenlevő dikarbonsavak és diaminosavak funkciós csoportjainak a részvétele egy igen ellenálló és nagyszilárdságú fal kialakulásának kedvez. Erre az ősbaktériumoknak élőhelyeik ismeretében szükségük is volt, de szükségük van ma is.

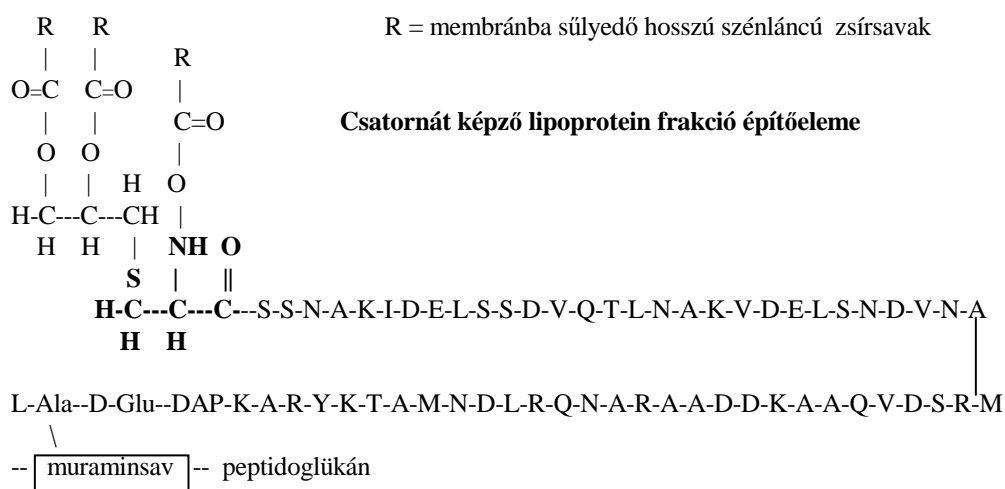
A cukorkomponensek UDP-aktivált formában vesznek részt a polimer kialakításában. Az oligopeptid építőelemek összekapcsolásában fontos szerepet játszhat az L-alanin, mert a vizsgálatok szerint a keresztkötés kialakulásakor jelentős mennyiségű L-alanin és L-glutaminsav jelenik meg a környezetben.

A sejtfal soha sem érintkezik közvetlenül a mikroba környezetével. Fehérjetermészetű anyagok, illetve glükopeptidek lazább vagy kompaktabb mozaikszerűen elhelyezkedő rétege (fonata) látható az elektronmikroszkópos felvételeken, amit S-rétegnek (surface layer) nevez az irodalom. A felépítő elemek kristályos szerkezetűek. A monomereket gyengébb erők, só kötés, ionos kötés, hidrogén kötés vagy hidrofób kölcsönhatások kapcsolják egymáshoz, de az ősbaktériumok közé sorolt *Staphylothermus marinus* esetében csak 70 °C-ra melegített hangyasav roncsolja szét ezt a fehérjeréteget.

## A KÜLSŐ MEMBRÁN

A Gram-negatív festődésű prokarióták nagy csoportjánál a peptidoglikán sejtfaon kívül, ahhoz kovalensen kötve egy lipidekben gazdag, meglehetősen vastag réteget találunk. A külső membrán kémiai szerkezete, felépítése jelentős mértékben különbözik a már megismert citoplazma membrán szerkezetétől. Elektronmikroszkópos felvételeken ez a különbség nem észlelhető, csupán a membrán vastagságában (10-20 nm) jelentkezik feltűnő különbség. — A külsőmembrán a sejtburok tömegének akár 80-90 százalékát is képezheti. A két elektront elnyelő réteg között itt is egy elektront áteresztő réteg látható. Az aszimmetrikus felépítésű külső membrán belső foszfolipidekben gazdag rétege lipoproteint is tartalmaz; a külső felületen viszont a lipopoliszacharidok döntő többségben vannak.

A külső membrán kémiai kezeléssel nagyjából lemozdítható. Kelátképzőkkel, (EDTA) a sejt felszínhez kötött magnézium- és kalciumionok megkötésével a membrán jelentős mértékben károsítható. A membrán másik része fenollal távolítható el. Gyengíthető a külső membrán és a peptidoglikán sejtfaon közötti kapcsolat tripszines kezeléssel, illetve pronázzal. — A külső membránt ugyanis lipoproteinek kapcsolják a peptidoglikán falhoz; mégpedig annak diaminopimelinsav komponense és a lipoprotein (terminális) lizin ε-amino csoportja között kialakuló kovalens kötés jelenti a kapcsolatot. *Escherichia coli*, *Serratia* sp., illetve *Salmonella* sp. esetében ez a kapcsolat minden tizedik muraminsav egységnél jön létre.



Ez a lipoprotein a sejtburok száraz tömegének 40 százalékát teheti ki. A fehérjerész - amelyben bizonyos aminosavak sorrendje periodikusan ismétlődik - 57 aminosavat tartalmaz. A terminális lizin argininhez kapcsolódik, ami a membrán kötődésének tripszinre való érzékenységét fokozza. Ez a lipoprotein a külső membránhoz nem kovalens kötéssel kapcsolódik, hanem a ciszteinhez kapcsolódó lipid rész süllyed a külső membrán lipidrétegébe. (Ilyen kapcsolat a citoplazma-membrán és a peptidoglikán sejtfaon között is kialakulhat.)

A külső membrán lipopoliszacharid frakciója antigén tulajdonságot mutat, gyakran endotoxinként károsítja a megfertőzött gazdaszervezetet. Ez a frakció 45 %-os fenollal 90 °C-on néhány óra alatt extrahálható. A toxikus lipidfrakció (A-lipid) enyhe savas hidrolízissel elválasztható az antigénként szereplő poliszacharid résztől. A fenol:víz kétfázisú rendszerben az A-lipid frakció a fenolos fázisban, a poliszacharid (glikolipid) pedig a vizes fázisban található.

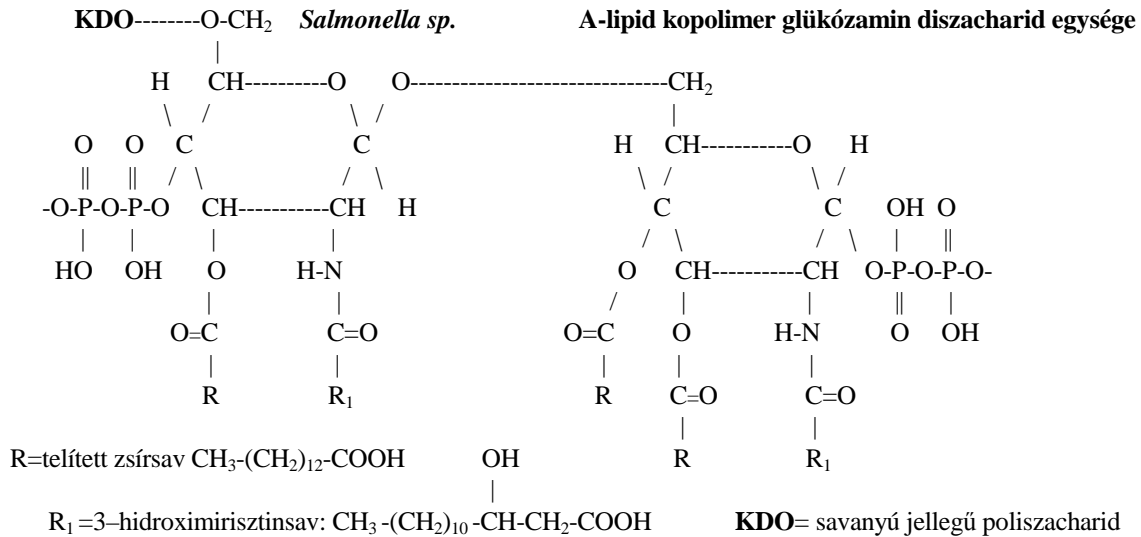
Az A-lipid frakció kémiai szerkezete a baktériumok viszonylag nagy csoportjában (*Enterobacter*, *Pseudomonas*) azonos, a poliszacharid rész viszont igen változatos felépítésű. Ez utóbbi hordozza az antigéntulajdonságot, ezért nagy a diagnosztikai jelentősége.

A klinikai gyakorlatban több száz O-antigén variáció ismeretes a flagellum nélküli baktériumok vizsgálatára. Jelölése a német ohne első betűjéből származik.

A *Salmonella* A-lipid frakciója 1,4-pirofoszfátkötéssel összekapcsolt olyan α-1,6-D-glükózamin diszacharid kopolimer, amelynek aminocsoportjai 3-hidroxi-mirisztinsavval (R<sub>1</sub>), a hidroxilcsoport-jai pedig hosszú szénláncú zsírsavakkal (R) vannak acilezve. Diszacharid egységenként egy hidroxilcsoporton keresztül az antigén tulajdonságot hordozó glikolipidlánc kapcsolódik a polimerhez.

A külső membrán viszonylag állandó szerkezetű glikolipid frakciója ötféle cukrot tartalmaz; egy N-acetil-glükózamin, két glükózt, két galaktózt, két heptózt és három nyolcszénatomos ketocukorsavat (oktánsav). A cukrok redukáló csoportjai részt vesznek a poliszacharid lánc felépítésében, ezért magának a glikolipid frakciónak nincs redukáló tulajdonsága. A poliszacharid láncot a terminális 2-keto-3-dezoxi-oktonát kapcsolja az A-lipid glükózamin komponenséhez. A cukorsav savanyú karakterét ellensúlyozandó még két etanolamin kapcsolódik foszforsavon keresztül a glikolipidfrakció állandó részéhez.

A glikolipid-frakció változó szakasza az állandó rész utolsó előtti tagjához, a glükózhoz kapcsolódik. Ez a specifikus oldallánc valójában triszacharid egységek nagyszámú, akár huszonöt-szörös ismétlődése. Ebből következőleg mint valami molekuláris szőrzet, úgy borítják ezek a poliszacharid láncok a Gram-negatív baktériumok külső felületét. Természetesen nem csak az ismétlődések számában, hanem a triszacharid egységek kémiai összetételében, illetve a cukoregységek közötti kötésben is lehet eltérés. Ez óriási variációs lehetőséget jelent.



—A külső membrán építőelemei a citoplazmában képződnek, és innen kerülnek át megfelelő csatornákon a peptidoglükán váz külső oldalára. Egyidejűleg nő az A-lipid frakció és a poliszacharid lánc. A szénhidrát építőelemek a citoplazma enzimmészletének termékeként a sejt plazmában (pool) állandóan jelen vannak.

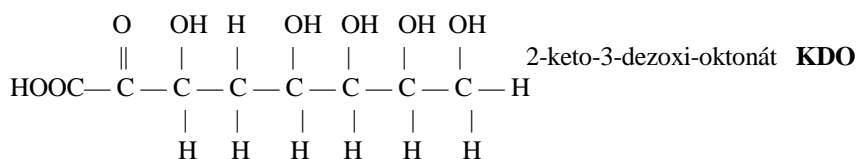
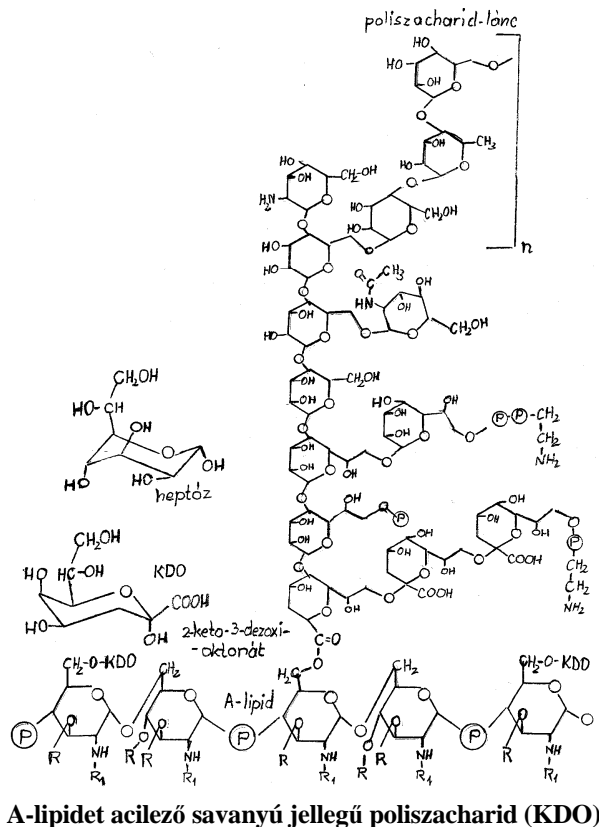
—Glükóz-6-foszfátból két izomeráz katalizálja a mannóz-6-foszfát képződést. Ebből mannóz-1-foszfáton keresztül UTP-vel reagálva képződik az UDP-mannóz.

—Az UDP-galaktózt UDP-glükózból egy epimeráz alakítja.

—A mannóz TDP-glükózból képződik.

—A triszacharidok szintézise a citoplazma membránban elhelyezkedő undekaprenol (C-55 poliizoprenol) lipidhordozón folyik. Az undekaprenol-foszfáthoz kapcsolódik a cukorfoszfát, miközben a megfelelő nukleotid felszabadul. Az elkészült triszacharid egységek azután a membrán külső oldalán kapcsolódnak a növekvő poliszacharid lánchoz. Ez a magyarázata annak, hogy az antigén jelleget képviselő poliszacharid láncokra kémiai jellemző a triszacharid egységek monoton ismétlődése.

—Az undekaprenil-pirofoszfát regenerálását egy membránba rögzített foszfataz végzi, amely egy anorganikus foszfát leválasztásával aktiválja a lipidhordozót.



## A BAKTÉRIUMOK TOKANYAGA

A sejtburok járulékos alkotóelemének tekinthető a tok, más néven kapszula. A betolakodó patogén baktériumok számára ez kiváló védelmet jelent a gazdaszervezet fagocitáinak támadásával szemben. A tok gátolja a baktérium kiszáradását, esetenként tartalék tápanyagraktárnak is tekinthető. A tok genetikailag meghatározott képződését rendszertani bélyegként használják, annak ellenére, hogy céltudatos munkával (átoltogatással) viszonylag könnyen nyerhetünk tok nélküli (apatogén) variánsokat. Griffith 1928-ban végzett kísérletét is a *Pneumococcus* patogén és "toknélküli" apatogén variánsával végezte.

A tok mérete és állaga (kompakt vagy nyálkás) fajok szerint, sőt törzsek szerint is változhat. Képződését a tenyésztési körülmények is befolyásolhatják. Kémiaiilag lehet poliszacharid, polipeptid vagy fehérje-lipopoliszacharid komplex, amit negatív festéssel, például tussal is láthatóvá tehetünk.

Az *Aerobacter aerogenes* D-glükóz-D-glükóz-D-glükuronsav-L-fukóz egységekből felépülő polimert termel tokanyagként.

A *Bacillus anthracis* tokanyaga  $\gamma$ -poli-D-glutaminsav.

A *Bacillus subtilis* tokanyaga az előbbi  $\gamma$ -poli-D-glutaminsav és  $\gamma$ -poli-L-glutaminsav táptalaj-összetétellel befolyásolható keveréke. A *Bacillus megaterium* tokja viszont a kétféle glutaminsavból felépülő, 1:1 arányban váltakozó polimer.

Az *Acetobacter xylinum* és az *Acetobacter acetigenum* borvirágnak nevezett borszerű, cellulóztartalmú anyagot választ ki.

A *Chlamidobacter* fajok glükózt, glükuronsavat, galaktózt és fukózt tartalmazó polimerből készítik hüvelyüket.

A *Mycobacterium tuberculosis* vastag lipid burkának köszönheti ellenálló képességét és saválló tulajdonságát.

A tokanyag nem egyszer a sejt aggregátumok kialakulását segíti. A *Sarcina ventriculi* sejtsomagjait a baktérium cellulóztartalmú terméke tartja össze. Ugyancsak ide tartozik a kékbaktériumok (Cyanobacteria) fehérjetartalmú poliszacharid tokanyaga. De ide sorolható a glükokálixnak nevezett poliszacharid fonalakból álló hálózat, ami számos esetben a baktériumoknak élőhelyükön való megtapadását segíti.

A tokanyag antigén tulajdonságát K-antigén, illetve virulencia-antigénként tárgyalja a szakirodalom, amelyet speciális festési módszerekkel, a tokantitesthez kötött festékekkel láthatóvá lehet tenni. Éppen ez a módszer bizonyítja, hogy az apatogénné tett, tokhiányos mutáns esetében a tok antigén egy vékony hártvaként jelen van a baktérium felületén.

Tokanyag, illetve annak némileg módosult származéka sokszor olyan nagy mennyiségben jelenik meg, hogy esetenként ipari termelését is megvalósították erre a célra kiválasztott törzsekkel.

A *Leuconostoc mesenteroides* extracelluláris transzglükozidáza a szacharózból ( $\alpha$ -D-glükopiranozil glükán) dextránt termel.

A *Streptococcus salivarius* ugyanebből a kiindulási anyagból polifruktózt, fruktánt állít elő.

## MOZGÁSSZERV A MIKROVILÁGBAN

A sejtfall járulékos tartozékaként említendő a prokarióta mozgásszerv, az ostor (flagellum), amely lehet:

- monotrich (az egyik végén egy ostor),
- amphitrich (mindkét végén egy-egy ostor),
- lophotrich ( több ostor),
- amphilophotrich (mindkét végén több ostor),
- peritrich (egyéb helyen található ostorok).

A fenti elnevezések görög szóösszetételek (τριχίος szőrös, περι köröskörül).

Az ostor 3-12  $\mu\text{m}$  hosszú, vékony (12-15 nm), mozgékony, csöves szerkezetű fonál. Az ostor mechanikus hatásra könnyen leválasztható és külön vizsgálható. Enyhén savanyú körülmények között (pH 3) detergenssel a flagellum roncsokból a fehérje felszabadítható és kémiai vizsgálatra alkalmas. A mechanikusan eltávolított flagellum viszonylag gyorsan, egyetlen generációs ciklus alatt regenerálódik.

Az ostort globuláris fehérjeegységekből kialakult, fonalas polimerekből összefonódott, csavart szerkezet jellemzi. *Bacillus pumilus* esetében hat fonalból épülő szekezet fogja körül a belső üreges csatornát. Az ostor elhelyezkedése genetikailag meghatározott, jellemző taxonómiai bélyegként elfogadott. Közöségi mikroszkóppal, áteső fényben, natív készítményben a flagellum nem látható. Rögzített készítményben, tanninsavas fuchsinnal azonban láthatóvá tehető.

Elektronmikroszkóppal jól megfigyelhető az alaptestből eredő mozgásszerv anatómiai felépítése (J. Bacteriol. 94:458.1967; 95:2374.1968). Két csapágyszerű képleten keresztül nyúlik a sejtmembrán belső oldalán képződő ostor. Az egyik csapágyszerű képlet a külső lipopoliszacharid membránba van rögzítve, a másik csapágyszerű képlet a citoplazma membránba ágyazódik. A forgást biztosító alaptestből (motor) induló fonál egy elhajló csötengelyen keresztül jut a sejten kívüli térbe. A mozgásszerv rögzítésében a sejtfall is fontos szerepet nyer. Lizozimmal készített szferoplaszton az ostor anatómiailag jelen van, de mozgásképtelen.

Az *Escherichia coli* ostorainak mozgása másodpercenként 20  $\mu\text{m}$  távolság megtételét teszi lehetővé. A vizsgálatok szerint 11 gén kódolja az alaptestet felépítő fehérjéket és egy gén a fonál építőelemét, a flagellin nevű globuláris fehérjét (40 kDa), amelynek különlegessége, hogy  $\epsilon$ -N-metillizint tartalmaz. A kész fehérje utólagos metilezése ellenállóvá teszi az ostort bizonyos proteolitikus hatással szemben. Az ostorfehérje a citoplazmában redukált körülmények között képződik, de oxidáló környezetben végzi feladatát. A flagellin cisztein nélküli fehérje, kevés aromás aminosav mellett jelentős mennyiségben tartalmaz glutaminsavat és aszparaginsavat. Kémia szerkezetük a mozgásképeség szempontjából meghatározó jelentőségű. Tirozin helyett beépülő p-fluorfenilalanin mozgásképtelenné teszi az ostort. Egyetlen aminosav cseréje mutagén kezeléssel a flagellinben felfüggeszti az ostor működését.

A két ostorral rendelkező *Spirillum* esetében megfigyelhető volt, hogy miközben az ostorok 40 fordulatot végeztek a baktérium teste ellenkező irányban 12 fordulatot tett. A megtett út másodpercenként 50  $\mu\text{m}$  volt.

Az ostor mozgató mechanizmusát részletesen a nyeles baktériumokon vizsgálták. Különlegessége ennek a csoportnak, hogy morfológiailag különbözik az irreverzibilisen rögzített nyeles sejtté alakult összejt a rajzósejttől (lásd 3240. fejezet). A laboratóriumi körülmények között növekedő tenyészet kétféle sejtet tartalmaz, egy rögzített, úgynevezett "anya"-sejtet és egy mozgékony alakot. Csak a rögzített sejt osztódik. Mivel a két sejtcsoport közötti élettani különbség a mozgékonyaságban jelentkezik, az anya és a leánysejt egyszerűen szétválasztható. Az anyasejt és az utód könnyű elkülöníthetősége a tenyészet szinkronizálását megkönnyítette. Az elkülönített rajzó sejtek szinkronizált fejlődése lehetővé tette az egyedfejlődési ciklus szubcelluláris differenciálódási jelenségeinek a részletes vizsgálatát.

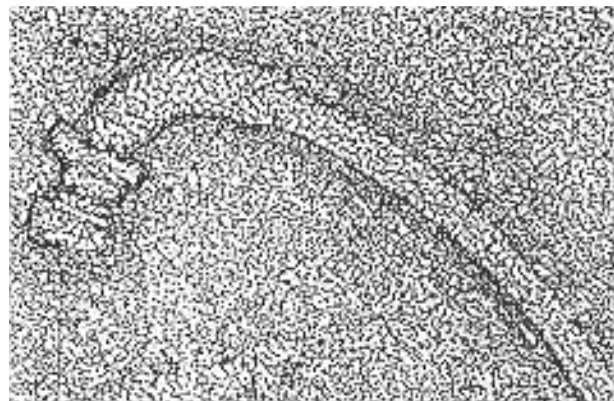
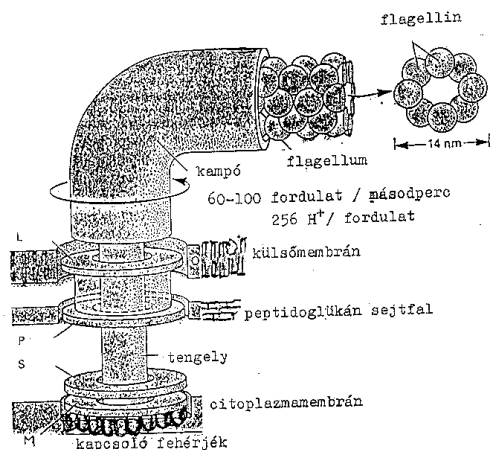
Nem véletlen, hogy az elmúlt húsz évben Shapiro, Poindexter, Newton és mások éppen a *Caulobacter crescentus* (ATCC 15252) baktériumon végezték az ostormozgás molekuláris biológiai vizsgálatát. Kutatómunkájuk eredményeként ma a fejlődési folyamat kitüntetett enzimeit kódoló gének térképét is ismerjük. (Microbial Develop. 1984 Cold Spring Harbor Lab.)

A mozgékony rajzó sejten poláris ostort, az ostor körül pilusokat látni, de itt találjuk a DNS- és RNS-fágok receptorait is. A fejlődési folyamat későbbi szakaszában az ostor elvesztésével a fágérzékenység is megszűnik. A nyeles sejt fággal nem pusztítható el.

A nyél kifejlését a membrán és a peptidoglikán falszintézis fokozódása kíséri. A nyél anatómiai felépítésében jól kimutatható a külső és belső membrán között elhelyezkedő peptidoglikán réteg. (A membránszintézis esetleges genetikai hibája megakadályozza a nyélképződést!)

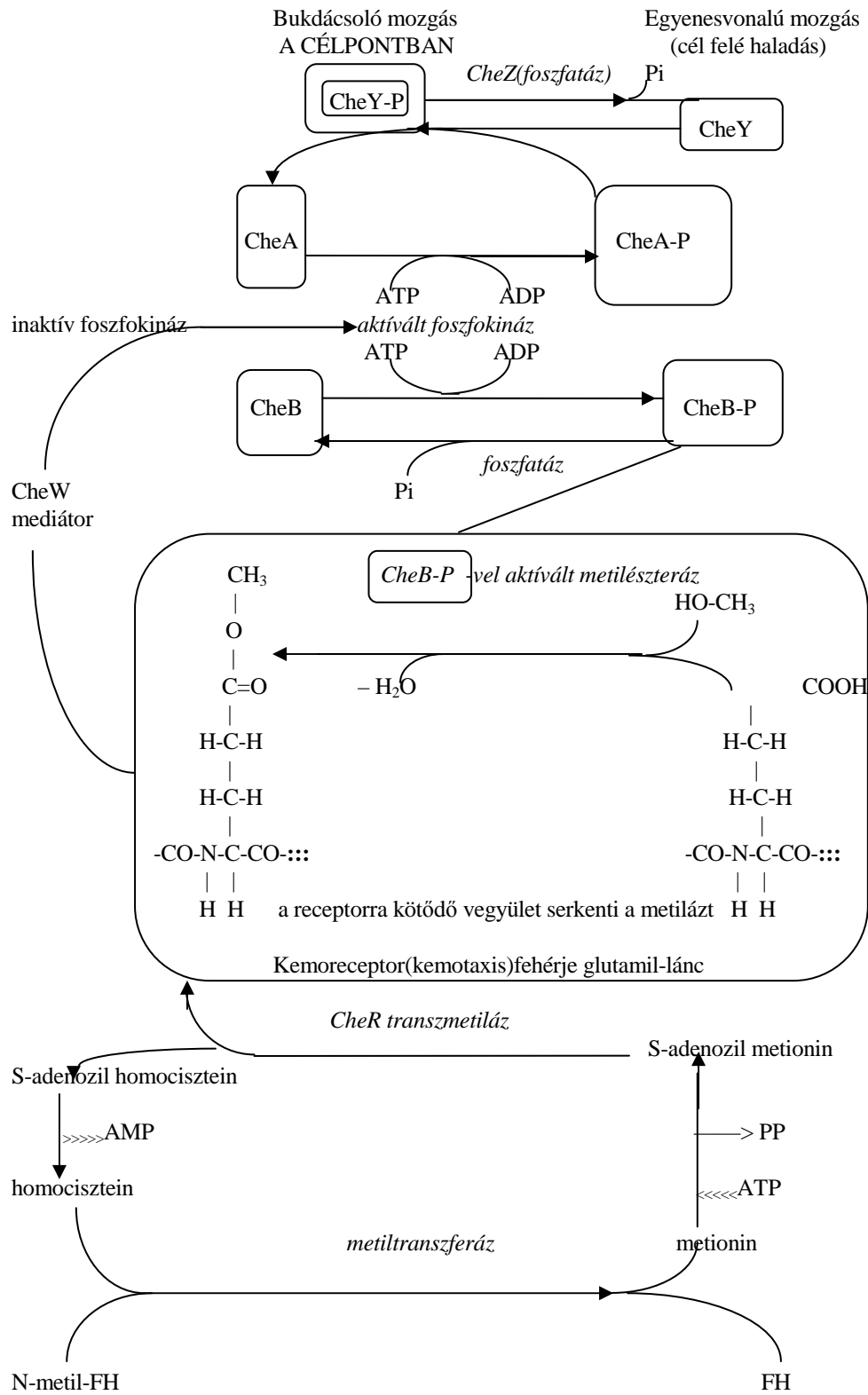
A kifejlődött nyeles sejten hamarosan megindul a DNS-állomány megkettőződése, valamint a pilin nevű fehérje szintézise. Később, időben jól követhetően indul meg a mozgásszerv fehérje építőelemeinek a szintézise. Az ostor hasonló szerkezetű, de kromatográfiával elkülöníthető (flagellin-A, flagellin-B) alegységekből épül fel. Az ostor mozgását beindító kemotaktikus folyamat működésében résztvevő enzimek (metiltranszferáz, metilészteráz, metilakceptor aktivitás) szintézise is ebben a szakaszban folyik. Ez utóbbi enzimek aktivitása az elkészült rajzó sejten éri el a maximális szintet.

Növekedés szempontjából kedvező körülmények között a fejlődési program várakozás nélkül fut tovább. Az elkészült rajzó sejt a nyeles sejtről leválva megtapadásra alkalmas helyet keres, azt megtalálva elveszti ostorát és nyelet fejleszt majd pedig a DNS megkettőződésével kezdetét veszi egy új szaporodási ciklus; amely (peptont és élesztőkivonatot tartalmazó tápközegben) 50-60 percig tartó fiziológiai folyamat.



***Caulobacter crescentus* ostormozgató mechanizmusának vázlatos rajza és fotója**

## Kemotaxis fehérjék (Che) irányító hatása



Az ostor mozgásához - a rotor forgásához - a membrán külső és belső felülete között kialakuló potenciálkülönbség (pH-grádiens) szolgáltatja a mozgató erőt. A proton a tengely mellett a sejt belseje felé haladva kerül ( $-\text{NH}_2 \rightarrow -\text{NH}_3^+$ ) a motor aminos csoportjára, ahonnan az álló gyűrűn (stator) levő  $-\text{COO}^-$  csoport magához rántva elmozdítja a forgó részt. Egyetlen fordulathoz 256 proton szükséges. Nem véletlen, hogy az ostormozgás sebességét az elektrontranszport-rendszer teljesítménye, az oxigénellátottság mértéke, végeredményben a kialakuló protongrádiens határozza meg.

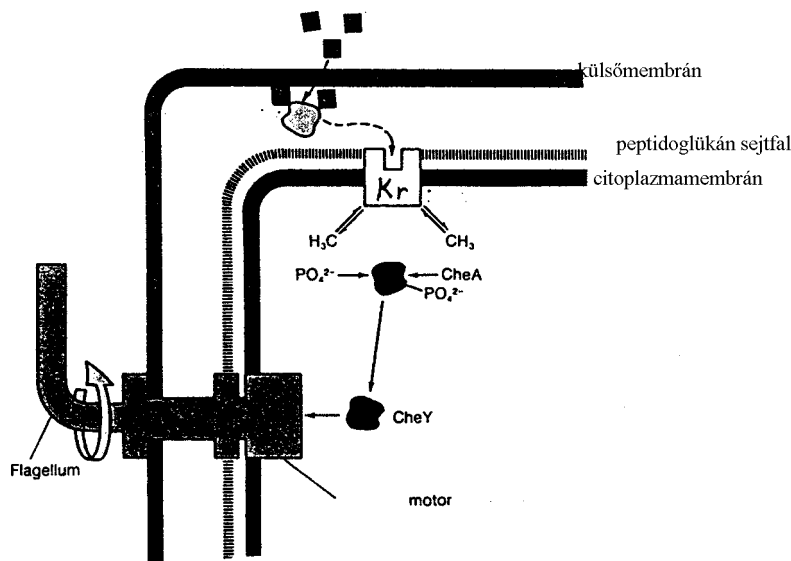
Egyenes vonalú egyirányú haladás esetén a rotor másodpercenként 60-100 fordulatot végez az óramutató járásával ellenkező irányban. Az óramutató járásával egy irányban mozgó ostor a baktériumsejtet bukducsló mozgásra, helyben maradásra készíteti.

Az aktív foszfokináz foszforilezi az (CheA) kemoreceptor-fehérjét. A foszforilezett (CheA-P) fehérje átadja a foszfátját a végső kemoreceptor-fehérjének (CheY). A CheY-P bukducsló mozgásra készíteti a sejtet. A CheY-fehérje defoszforilezett állapotban viszont egyenes vonalú mozgást gerjeszt. A defoszforilezést végző fehérjét (CheZ) is azonosították.

A mozgás irányát a membránhoz kötött kemoreceptor fehérje (60 kDa) metiláltságának mértéke befolyásolja. A kemotaxis-fehérje (kemoreceptor) glutamil oldalláncának - az S-adenozil-metionin függő transzmetiláz (CheR-fehérje, 30 kDa) és a karboximetil-eszteráz (CheB-fehérje, 36 kDa) aktivitás arányától függő - karboxi-metilezettsége szabályozza a mikroszervezet mozgását. A metilezett kemoreceptor fehérje intracelluláris mediátort (CheW) termel, amely az inaktív foszfokinázt aktiválja.

A kemoreceptor fehérjéhez kötődő aktiváló vegyület elősegíti a fehérje metileződését. Az aktivátor távozása viszont a metilészteráz működésének kedvez.

A prokariota haladási irányát végül is a környezetében jelenlevő aktiváló vegyület koncentrációja, illetve a kemoreceptor fehérjén eltöltött idő hossza határozza meg. Az aktiváló anyag forrásánál, a receptor fehérje csaknem állandó metilezettsége a CheY-P állapotnak kedvez, azaz a mikroszervezet helyben bukducsló, mert az ostor az óramutató járásával egy irányban végzi a forgó mozgását.



A sejtburrokba rögzített kemoreceptor (Kr) és a mozgásszerv kapcsolatának vázlata

# A MIKROVILÁG FELOSZTÁSA — AZ OSZTÁLYOZÁS MÓDSZEREI

A rendszerezés ősi emberi tevékenység. Célja mindig az volt, hogy a környező világ bonyolultsága, sokrétűsége felfogható méretűre csökkenjen. A fogalomalkotás már bizonyos rendszerezést jelent. Ezzel a művelettel a tárgyalandó egyed, jelenséget elhatároljuk az idegen egyedektől, megkülönböztetjük más jelenségektől. A fogalom leírásának módszere a körülírás, amely egyértelműen megadja a vizsgálandó objektum ismert egyeddel megegyező, illetve másoktól eltérő, végeredményben elkülönítő tulajdonságait.

Linné 1734-ben közreadott mesterséges rendszere volt az első, amely a maga korlátaival ugyan, de eligazodást jelentett kora élővilágában és évszázadokon keresztül húzódó vita lehetőségét biztosította a téma művelői számára. Rendszerében a mikrovilágot — Chaos csoportba sorolva — a vizsgáló módszerek teljesítőképessége miatt a Leeuwenhoek által leírt hat faj képviselte. Linné rendszere hierarchikus volt, binominális (genus és species) nevezéktannal. A hierarchikus rendszer stabil tulajdonságra épít felfelé, miközben lefelé kevésbé stabil tulajdonságot is számításba vesz. Az egyes rendszerezési szinteket a név megfelelő végződésével különbözteti meg. Legalacsonyabb taxon a faj (species), mely lehet a nemzetség (genus) jelzője, helyes formában egyeztetve (*Bacillus subtilis*), állhat független értelmezőként alanyesetben (*Vibrio comma*) vagy birtokos esetben (*Acetobacter aceti*).

A faj fenotipikus hasonlóság alapján kiválasztott törzsek gyűjtőfogalma. Tagjai nagyszámú független jellemző tulajdonság alapján elkülöníthetők más csoportoktól. A species tovább osztható alfajra (subspecies), változatra (varietas) vagy alak szerint elkülöníthető egyedre (forma). Fajon belül immunológiai módszerek használatával további egységes csoportok különíthetők el szerotípusként. Ez utóbbi módszernek főleg a kórokozók azonosításakor van szerepe. Fajon belüli elkülönítés céljából megnőtt a jelentősége a "törzs" (strain) fogalmának, amelyet bizonyos szempontból kiválasztott, például piaci szempontból előnyös, primer vagy szekunder metabolitot termelő mikroba jelölésére használnak. Felfelé a család (familia, ~-aceae), a rend (ordo, ~-ales), az osztály (classis, ~-phyceae), a csoport (divisio, ~-cutes), és az ország (regnum) használatos rendszertani egységként.

A rendszerezésben ma is sok a szubjektív elem. A fajok leírása a szakirodalomban korántsem egységes. A szerzők igényességüktől, munkamódszerüktől függő mértékben közelítik meg az ideális színvonalat. A vizsgáló módszerek gyors fejlődése, valamint új összefüggések felismerése indokolja időnként egy-egy rendszertani csoport átrendezését. A mikrovilág törzsei végtelen sok jellemző tulajdonsággal rendelkeznek. Ezek közül sok közös, más részük eltérő. Rendszerezés szempontjából az az adat használható, amely egyértelműen igen vagy nem választ képvisel (szénhidrátot hasznosít vagy nem, fermentál vagy nem, aerob vagy anaerob, rezisztens vagy érzékeny, stb.). Megkülönböztetésnél azon fenotipikus tulajdonságokra támaszkodhatunk, amelyek mérhetőek, jellemzően megkülönböztethetők. A vizsgálati eredmények irodalmi alapon történő összehasonlítása sajnos nem mindig ad elfogadható eredményt. A folytonosan változó jelleg (szín) értékelése szubjektív. A kvantitatív jellegek alacsonyabb értéket képviselnek, mert csak azonos körülmények között, párhuzamosan végrehajtott kísérleti eredmények hasonlíthatók össze. Bonyolítja a kérdést, hogy maguk a tulajdonságok is változhatnak. Ezért a variabilitás, a változékonyság mértéke is hamarosan bevonul a rendszertani jellegek közé. Nyilvánvaló, hogy a rokonság felderítésére a kromoszómában írt genotípus összevetése volna az ideális. Annak ellenére, hogy egyre több faj teljes kromoszóma térképe ismert, mégis praktikus szempontok miatt bizonyos DNS-darabok szerkezetének az összehasonlításával jellemezzük a rokonságot. Bonyolítja a helyzetet az extrakromoszomális elemek, plazmidok információtartalma. A kromoszómában és az extrakromoszomális elemekben található gének összeségét idiotípusnak nevezzük.

## A prokariota regnum rendszertani felosztása

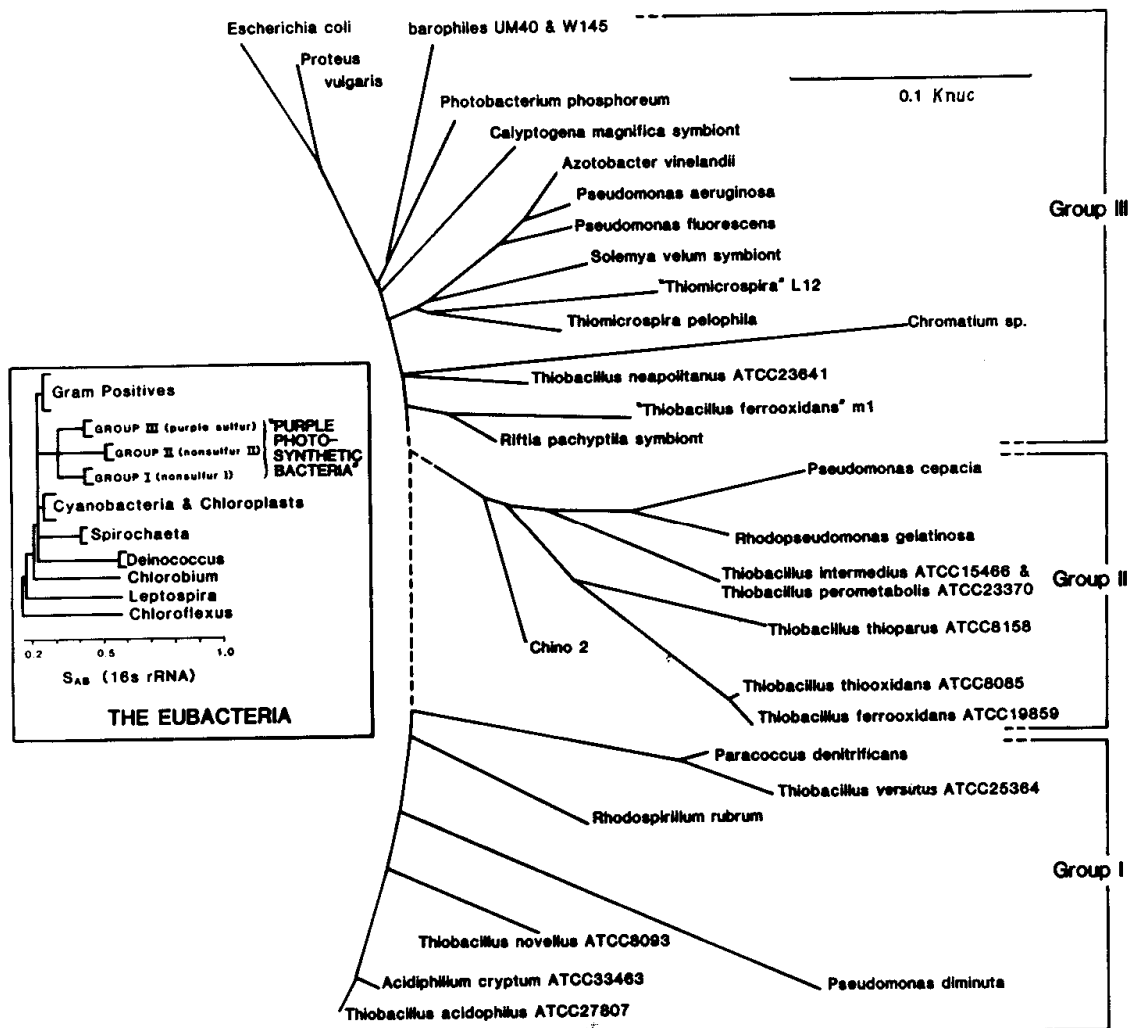
1.) Csoport	Gracilicutes (vékonyfalúak)	
I. Osztály		Scotobacteria (Gram-negatív)
II. Osztály		Anoxyphotobacteria
III. Osztály		Oxyphotobacteria
2.) Csoport	Firmicutes (szilárd sejtfaúak)	
I. Osztály		Firmibacteria (rövid pálca Gram-pozitív)
II. Osztály		Thallobacteria (elágazó baktériumok)
3.) Csoport	Tenericutes (lágyfelszínűek)	
I. Osztály		Mollicutes (fal nélküliek)
4.) Csoport	Mendosicutes (ellenálló felszínű)	
I. Osztály		Archaeobacteria (Ősbaktériumok)

(exemplum primum)

A fenotípus az egyedek megjelenési formája, amelyet az idiotípus és a környezet együttesen alakít ki. Ilyen esetben a plazmid elvesztése lényegesen módosíthatja egy-egy törzs fenotípusát. Mikrobaik esetében holotípusnak nevezzük az eredeti névadó tenyészetet, amelyet szerencsés esetben valamelyik nemzetközileg ismert törzsgyűjteményben őriznek. A taxon többi tagja a lektotípus. Ha az eredeti tenyészet kipusztul, akkor a faj új képviselője neotípusként kerül valamelyik törzsgyűjteménybe. Az elmúlt száz év alatt gyakran megtörtént, hogy

ugyanazon fajt egymástól függetlenül több szerző is leírta. Ezek az elnevezések szinonima nevekként kerülnek az irodalomba.

Az élővilág fejlődésének tanulmányozása, az evolúció elvének terjedése, a XX. században a természetes rendszer megalkotására irányította a biológusok figyelmét. A tulajdonságokat öröklött (patristical) és felvett (cladistical) tulajdonságokra osztották, és ezek jelenlétével és számszerű arányával kívánták az egyes törzsek filogenetikus affinitását meghatározni. A magasabb rendűeknél a numerikus taxonómia is előszeretettel használja a fenetikus affinitás elvét, az öröklött tulajdonságokban való hasonlóságot szembe állítva a felvett tulajdonságokkal. A kapott érték az ősi vonaltól való eltérés mértékét jelzi. A filogenetikus osztályozás azonban mind a mai napig a bakteriológia területén nem sok sikert hozott. Szűkebb területek leírására előnyösen használható a NUTAX, a numerikus taxonómia, amely a mikroszervezetek közötti hasonlóság és különbözőség számszerű értékével jellemzi az élővilág képviselőit. Már Linné (Carolus Linnaeus) francia kortársa, Michel Adanson javasolta ezt az osztályozási elvet, amely azonban számítógép hiányában az idő tájt csupán elképzelés maradt. Ma viszont a lehetőség adott, és a taxonómusok élnek is ezzel a lehetőséggel. Az összehasonlítandó szervezetekről az adatmátrix elkészítése nagyszámú mérést igényel. (Megnyugtató eredményt legalább 100-120 jellemző adat összehasonlításától várhatunk.)



A vizsgálendő organizmus tiszta tenyészetének az előállítására is hosszabb laboratóriumi tevékenységet jelent. A különböző, növekedéssel kapcsolatos vizsgálatok, a tápanyag-hasznosítás, a spóráképzés, a lebontó folyamatok vizsgálata, a különböző érzékenységi és függőségi vizsgálatok, DNS-hibridizáció, 16S rRNS analízis mind időigényes folyamat. Ezért a nagyszámú tulajdonságot megfelelő faktoranalízissel kell a valóban jellemzőkre csökkenteni. A kapott morfológiai és biokémiai eredményekből számolják ki a teljes hasonlósági adatokat.

A hasonlósági mátrixba rendezett, értékek szerint átcsoportosított legnagyobb hasonlósági adatok az egyes törzspárok fenotípusa közötti hasonlóság mértékét (fenomérik) adják, amelyből vizuálisan is értékelhető, filogenetikai törzsfához hasonló dendrogram szerkeszthető. Tudatában kell lennünk, hogy ez nem a törzsfajlódásbeli rokonságot mutatja. Az egyes csoportok a csökkenő fenomérik sorrendjében kapcsolódnak egymáshoz.

A törzs párra vonatkozó fenomérték, a teljes hasonlóság értéke

$$S_{AB} = \frac{s_{AB} + s'_{AB}}{n}$$

$s_{AB}$  = hasonlósági érték kvalitatív 2 vagy több állapot esetén

$s_{AB}$  értéke 1, ha  $a = b$ , de 0, ha  $a \neq b$   $n$  = a vizsgált karakterek száma

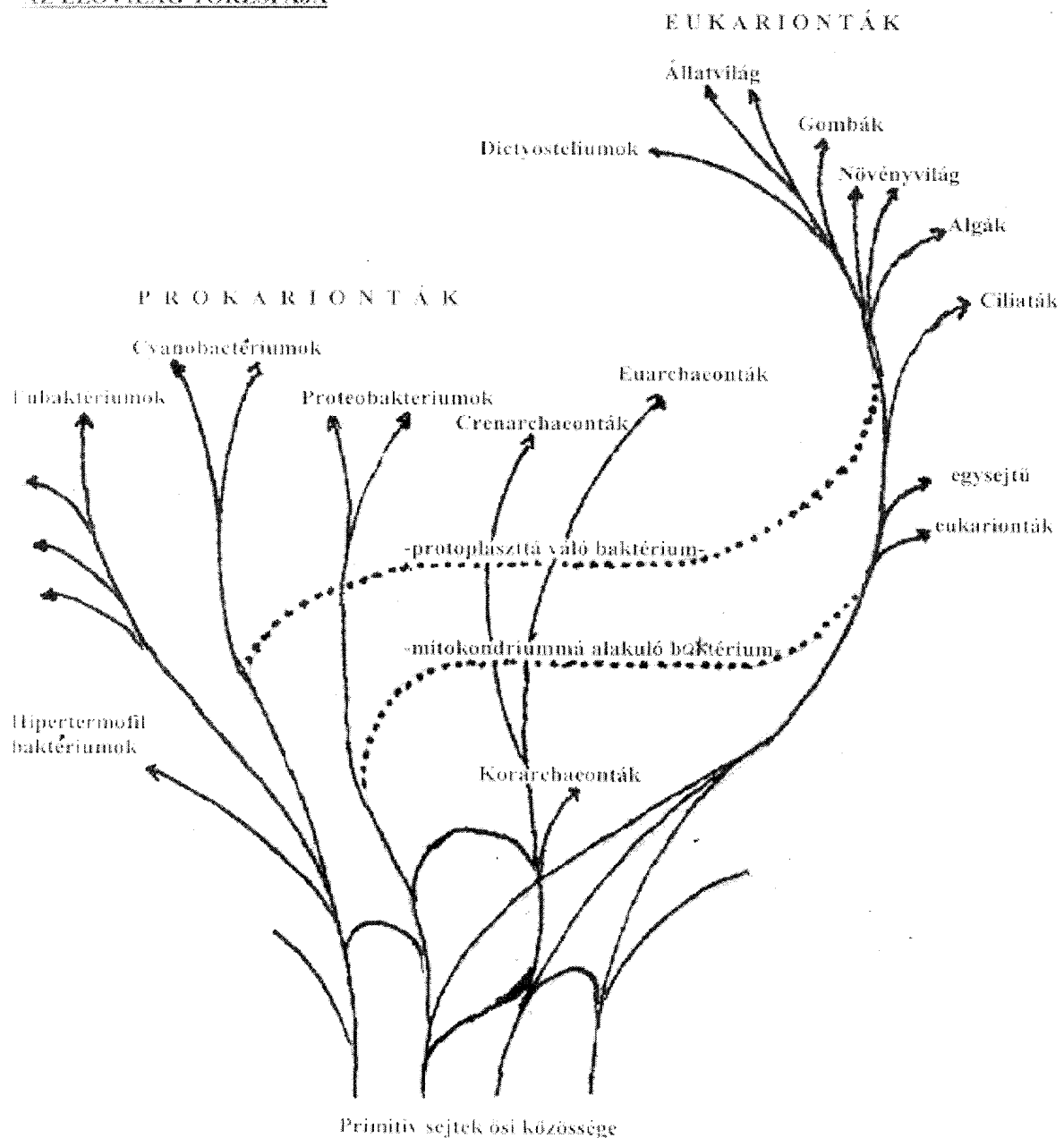
$s'_{AB}$  = hasonlósági érték kvantitatív multi állapotjellemzők esetén

$$s'_{AB} = 1 - \frac{a - b}{d}$$

$d$  = a karakter legnagyobb és legkisebb értéke közötti különbség

A gyakorlati ellenőrző munka, a víz-mikrobiológia, a közegészségügyi vizsgálatok, a klinikai bakteriológia azonban gyors és megbízható eredményeket kíván. Ezekben a területeken az igények kielégítése céljából különleges tesztrendszereket dolgoztak ki. Ezek a főleg immunbiológiai alapon működő tesztrendszerek meglepően rövid idő alatt (10-20 perc) kiértékelhető eredményt szolgáltatnak a klinikus számára. — A XXI. Század elején a genetika és a molekuláris biológia szüntelenül fejlődő módszereinek alkalmazásával felrajzolható az élő világ törzsfája, kiindulva a primitív ős-sejtek közösségéből.

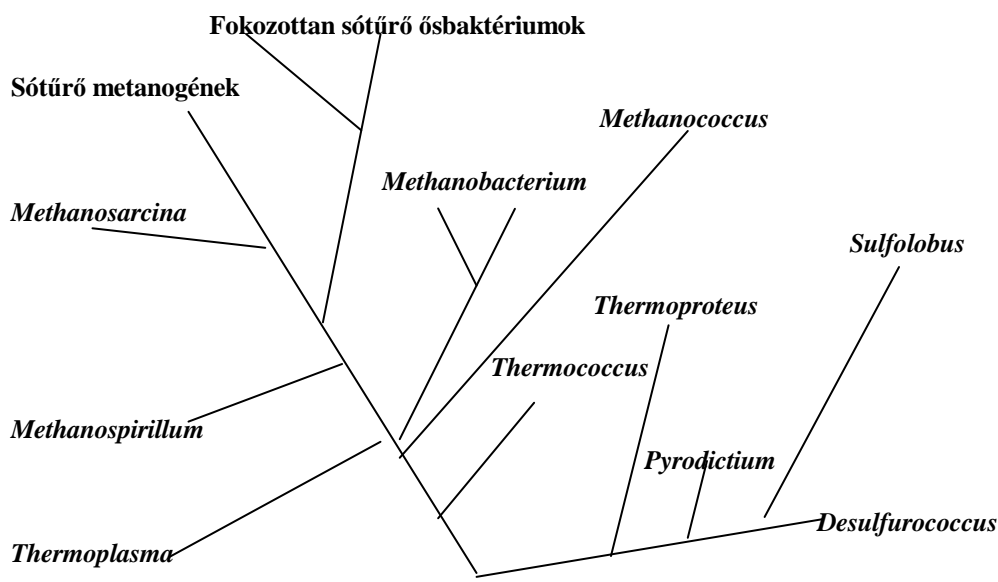
### AZ ELOVILÁG TÖRZSFÁJA



## ARCHAEOBACTERIA ÓSBAKTÉRIUMOK

Az Ósbaktériumok a prokariota élővilág korai formáit képviselő szervezetek. Létezésüket 3,5 milliárd éves kővételek igazolják. Geotermikusan fűtött redukáló környezetben a víz forráspontján a gőzfázis határán léteztek  $H_2$ ,  $CO_2$ ,  $N_2$ ,  $H_2O$ ,  $NH_3$ ,  $H_2S$ ,  $S^0$ ,  $CH_4$ ,  $NO$ ,  $SO$  jelenlétében. --- Mit tartalmazhatott az étletterük, az őseles? A pionírek által kiválasztott vegyületeket és az elpusztult sejtörmégből felszabaduló anyagokat. A talajban, természetes vizekben, szélsőségesen kegyetlen körülmények között ma is élnek. Mások az ember környezetében, a kérődzők bendőjében, illetve a természetes emésztő csatornájában végzik feladatukat. Sok esetben egysejtűekkel együtt élő mikroszervezetekként találkozunk velük. Ide sorolhatók a környezeti szennyezés felszámolásában jeleskedő lakói az anaerob szennyvíztisztítóknak és a biogáz telepeknek. A Föld őstörténeke egy hosszú periódusában az élővilág főtömegét valószínűleg ők alkották. Erre utalva (αρχαίος: régi, eredeti) nevezték el a prekambriumban kialakult szervezetek ma élő képviselőit ósbaktériumoknak.

Az idesorolt metántermelők (metanogén) és a sótűrő fajok (halofil) régóta szerepelnek a szakirodalomban. Alaposabb megismerésükre azonban csak a biokémiai vizsgálati módszerek fejlődése, az analitikai módszerek tökéletesedése adott lehetőséget. Különleges filogenetikai jelentőségüket csak a század utolsó harmadában ismerték fel. Aerob, anaerob és fakultatív anaerob fajaik között kemolitoautotrófok, organotrófok, illetve fakultatív organotrófok fordulnak elő. Általában nem képesek szénhidrátot energiaforrásként hasznosítani. Széndioxidból, hidrogénből, kénhidrogénből és ammóniából építik fel szervezetüket, de sok faj képes a légköri nitrogén megkötésére. Mezofil és termofil fajaikon kívül néhány törzsük  $100\text{ }^\circ\text{C}$  felett is jó növekedést mutat. A rendszertani helyzetüket bemutató ábra a ma elfogadott evolúciós elvek szellemében a legújabb 16S–18S-rRNS szekvenciák adatainak figyelembevételével, a nemzetközileg elfogadott nomenklátúra alkalmazásával készült.

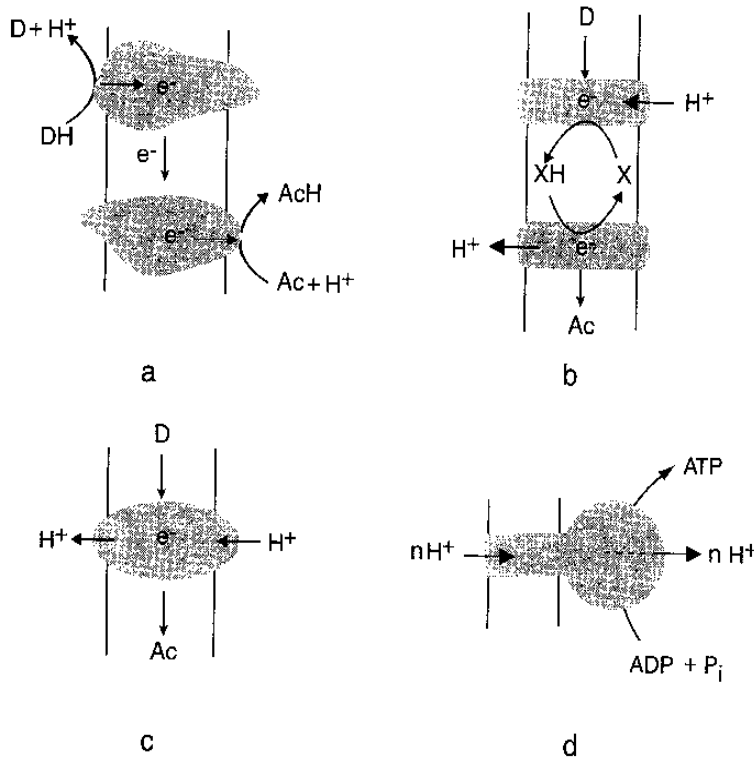


1972 óta az Ósbaktériumokat — mint a harmadik önálló fejlődési területet képviselő szervezeteket magába foglaló "kingdom" képviselőit — a hipotetikus fejlődéstani rendszer törzsfájának a gyökerénél helyezik el. Nem meglepő, hogy az ide sorolt szervezetek anyagcsere rendszere és a biológiai szerveződésük alapvetően, meghatározó jellegűen különbözik az eubaktériumok és eukarióták közé sorolt lények szerveződésétől. Ebből a szempontból különös figyelmet érdemel az energia raktározás gyakorlati megvalósulása, ami az élet minden létező formájának előfeltétele. Ennek a rendszernek — joggal feltételezhetően — filogenetikai szempontból nagyon korán kellett kialakulni. Nem kétséges, hogy az exergonikus és az endergonikus folyamatok közötti energiaátvitel, a rövid időtartamra és a hosszú időre hatásos energiátárolás lehetőségét biztosító, állandóan megnyilvánuló mechanizmus a sejtes élet kialakulásának alapvető feltétele.

Az Ósbaktérium-csoport szerveződése meglehetősen heterogén, hiszen kemolitoautotrófok és organotrófok is vannak közöttük. Az obligát anaerobokon kívül egyes törzseikre jellemzően különböző aerob és anaerob körülmények között megnyilvánuló respiráció is megfigyelhető. A szulfidokat, általában az anorganikus kénvegyületeket, sőt a termésként is hasznosítják. Néhány ósbaktérium, például a sótűrők az ősi (fototróf) energiaátvitelre szolgálnak példaként. Klorofillt tartalmazó vízbontásra képes fotoszintetizáló nem akadnak közöttük. Ez támogatja azt a feltételezést, hogy a terminális oxidációs rendszer szerveződése megelőzte a zöld-fotoszintézis, töltést szétválasztó vízbontó mechanizmusának megjelenését.

Az ősi elnevezés arra utal, hogy feltételezés szerint ezek a szervezetek az eubaktériumoknál előbb léteztek, bár a fehérjeszerveződésben való azonosságuk alapján az eukarióták valamilyen ősi ágának is tekinthetők. A riboszómáik szerveződése a baktériumokétól egyértelműen különbözik, amennyiben az

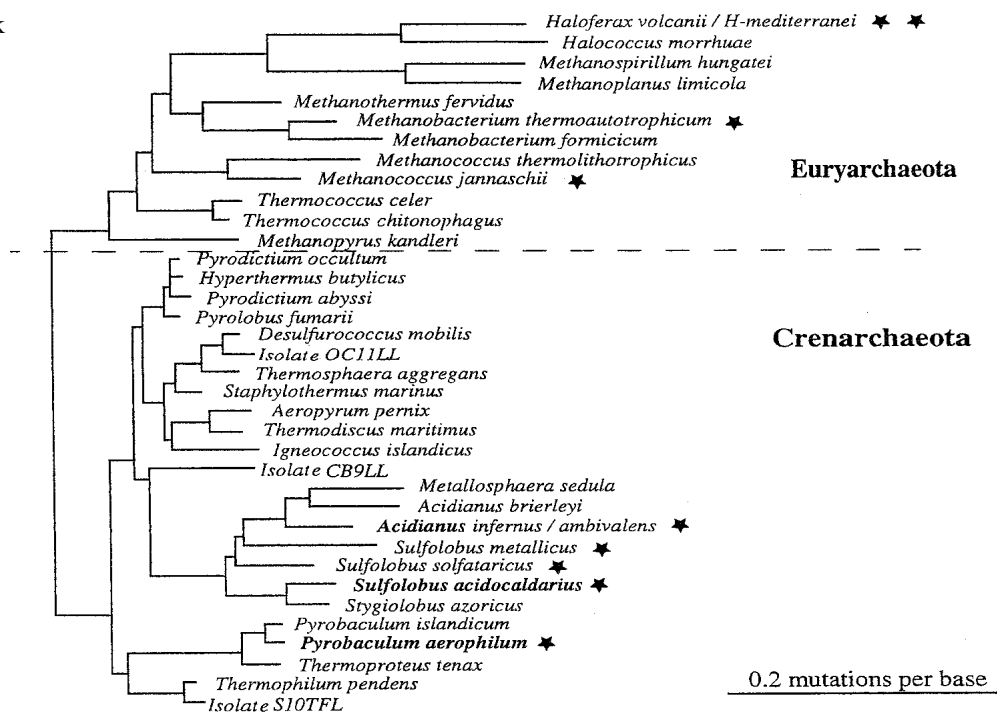
ősbaktériumok riboszómája savas karakterű fehérjékből szerveződik, az eubaktériumok riboszómájára viszont bázikus karakter jellemző. A riboszómák, de a tRNS-eik is feltűnően sok módosult bázist tartalmaznak. A riboszomális fehérjeszintézis indításához nincs szükségük formil-metioninra. A klóramfenikol a riboszomális fehérjeképződést nem gátolja, mégis a hidrogenáz működését zavarva gátolja a metanogének növekedését. A gombákban folyó fehérjeszintézist gátló cikloheximid az ősbaktériumok növekedését nem befolyásolja. Az RNS-polimerázuk szerkezetének az eubaktériumokétól eltérő voltát igazolja, hogy az ősbaktériumok RNS-szintézise rifampicinnel általában nem gátolható. A membránkárosító antibiotikumok közül a gramicidin-S, a monenzin és a lazalocid hatásosak. Ugyancsak növekedést gátló hatása a nizin.



Az iongradiens kialakításának lehetséges útjai

A membránnal határolt sejt energiataralmát a belső  $\Delta\mu\text{H}^+$ , illetve a  $\Delta\mu\text{Na}^+$  ion tartalom változása határozza meg amit befolyásolhat a bacterio-rodopszinra ható fényenergia intenzitása, a citoszol ATP szintje, az aerob légzés, illetve az anaerob respiráció (metán, illetve kénhidrogén képzés) mértéke. Az iongradiens kialakítása történhet a membránon átjutó elektron segítségével (a), amikor a donor vegyületből származó elektron az akceptor protonfelvételét segíti. Az elektron mozgás egész folyamata lejátszódhat a membránon belül (b), amelynek eredményeként a citoplazmából az elektronmozgás közben a proton a külső térbe távozik. Távozhat a proton egy redoxipumpa (például cit c oxidáz) hatására (c). Végül a proton áramlással hajtott ATP szintézis (d) adja (proton gradiens által hajtott  $\text{A}_1\text{A}_0$  ATPáz, illetve nátrium ion által hajtott  $\text{F}_1\text{F}_0$  ATPáz által történő energiaátvitel) az élethez szükséges energia elemet.

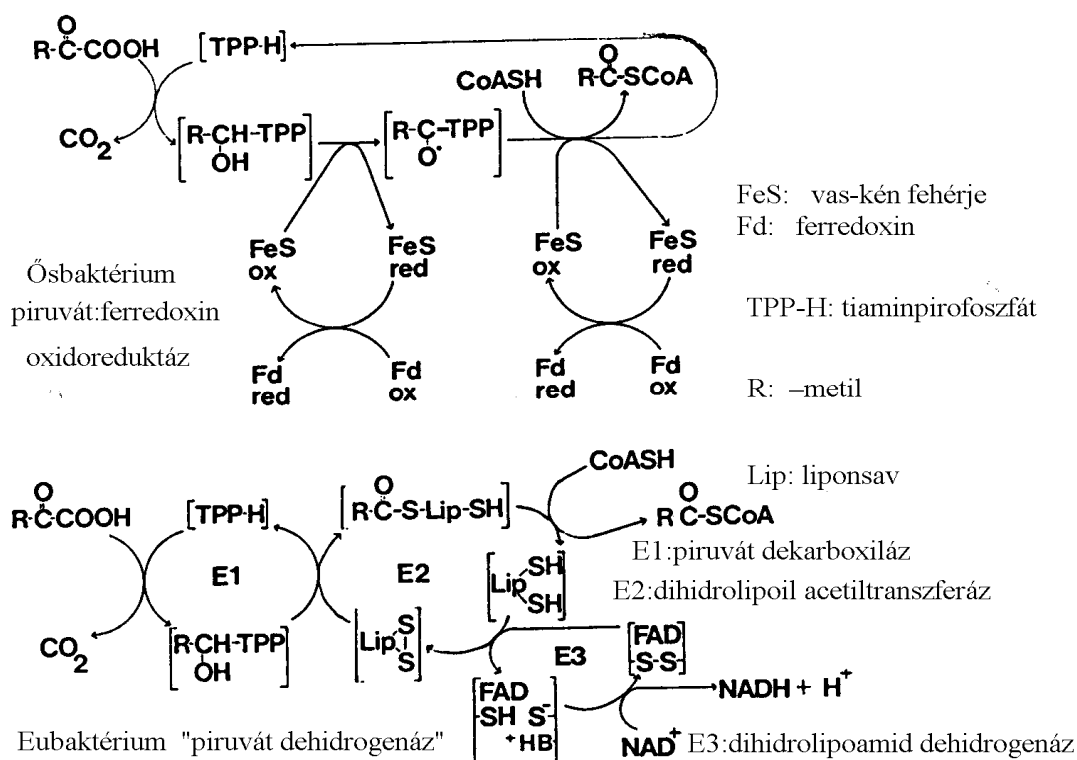
Ősbaktérium fajok rokonsági viszonyai



A riboszómális RNS szekvencia összehasonlítása alapján megrajzolt filogenetikai törzsfájuk az eddig ismert fajákat két nagy csoportba sorolja (Euryarchaeota és Crenarchaeota). Az utóbbi évtizedekben a bioenergetikai összehasonlításuk részletesebben a csillaggal megjelölt törzseknél történt meg. Funkcionálisan elkülönülő jelentősebb rendszertani csoportjaikat metántermelők, szulfátredukálók, fokozottan sótűrők, sejtfal nélküli ósbaktériumok és erősen hőtűrő kénhasználók elnevezés alatt tárgyalja a szakirodalom. Kialakulásuk körülményeire utaló szigorúan anaerob mivoltukból következik, hogy a metanogének és a szulfátredukálók csupán oxigénszegény körülmények között létezhetnek.

A DNS függő RNS-polimerázuk is az eukariota polimerázzal mutat rokonságot. DNS-tartalmuk tömege ( $10^9$  Dalton) a prokarioták átlagának harmadát alig éri el. Génállományuk az eukariotákra jellemzően exon és intron szakaszokat tartalmaz, és így szükségszerűen az RNS-molekulák is egy érési folyamatban képződnek. Hisztionszerű fehérjével burkolt kromoszómájukban feltűnően sok az ismétlődő, mozgékony szakasz, sőt extrakromoszómális elemeket is kimutattak bennük. A genetikai kódrendszerük valószínűleg megegyezik a prokariota kóddal. A 16S és a 18S RNS bázissorrendje azonban teljes mértékben különbözik az eubaktériumokban és eukariotákban megismerttől. A riboszómális fehérjeszintézis metioninnal indul

Alapvetően eltér az ósbaktériumok acetyl-CoA képződését katalizáló enzimkomplexének a szerkezete és működése az eubaktériumok és az eukarioták oxidatív decarboxilező aktivitásától, annak ellenére, hogy mindkét esetben a piruváttól egy  $\text{CO}_2$  felszabadulásával acetyl-CoA képződik



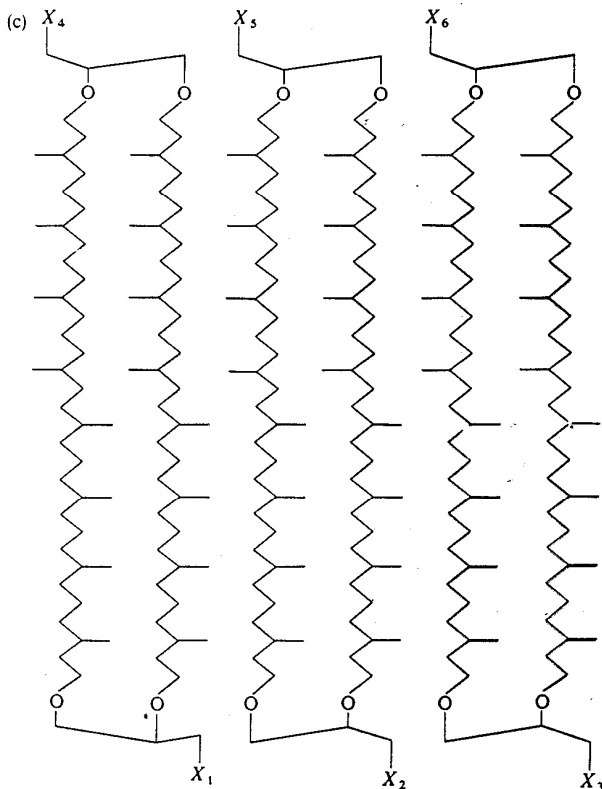
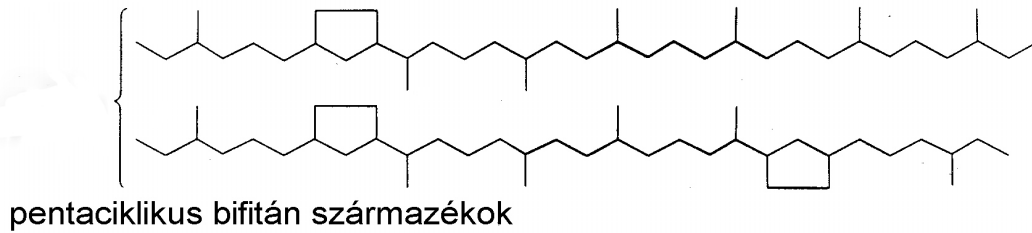
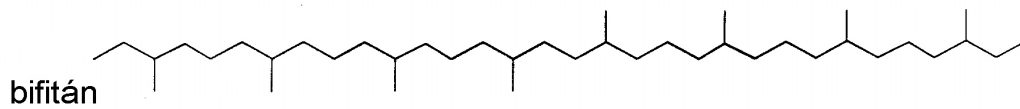
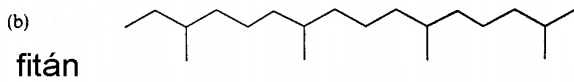
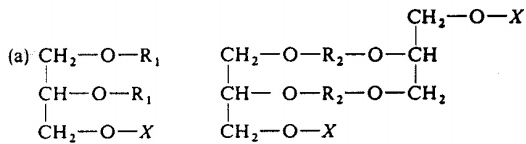
### Acetyl-CoA képződés az ósbaktériumokban, illetve az eubaktériumokban

Az ábrán jól követhető, hogy a piruvát decarboxilezésekor képződő TPP-acetál  $\text{C}_2$  egysége a ferredoxin-oxidoreduktáz segítségével közvetlenül kerül a CoA-ra tiolészter formában. --- Később az oxidatív foszforiláció megjelenése után kialakult rendszer a TPP-acetál  $\text{C}_2$  egységét a liponsavval alkotott közti terméken keresztül alakítja ki tiolészterként az acetyl-CoA-t. --- Az ósbaktériumokban kialakult ferredoxint igénylő mechanizmus sok esetben működő formában az aerob szervezetek génállományában is jelen van, amely lehetőséget anaerob körülmények között hasznosítanak.

Az elektron- és protonmozgást citokrómok és quinonok hiányában más rendszerek, sok esetben fluoreszkáló kofaktorok segítik. Ilyen például a hidrogénnel hidrogenáz közvetítésével reagáló  $\text{F}_{420}$ , amelynek redukált alakja színtelen, oxidálva viszont kékeszölden fluoreszkál. Az ide sorolt, különböző színben pompázó, többnyire fluoreszkáló szervezetek méretben és alakban változatosak (0,1-15  $\mu\text{m}$ ), néhány fajuk 200  $\mu\text{m}$  hosszú fonalakat is alkothat. A részletesen vizsgált és megismert fajok különböző módon, osztódással, bimbózással, fragmentálódással szaporodnak, sok faj szaporodási módja azonban még felderítetlen. Magyarátul szolgál talán az a tény, hogy tenyésztésük sok esetben technikailag nehezen kivitelezhető fizikai-kémiai körülményeket (hőmérséklet,

nyomás, pH) igényel. Különleges laboratóriumi felszerelést, szigorúan anaerob munkahelyet kell kialakítani a velük foglalkozó kutatók számára.

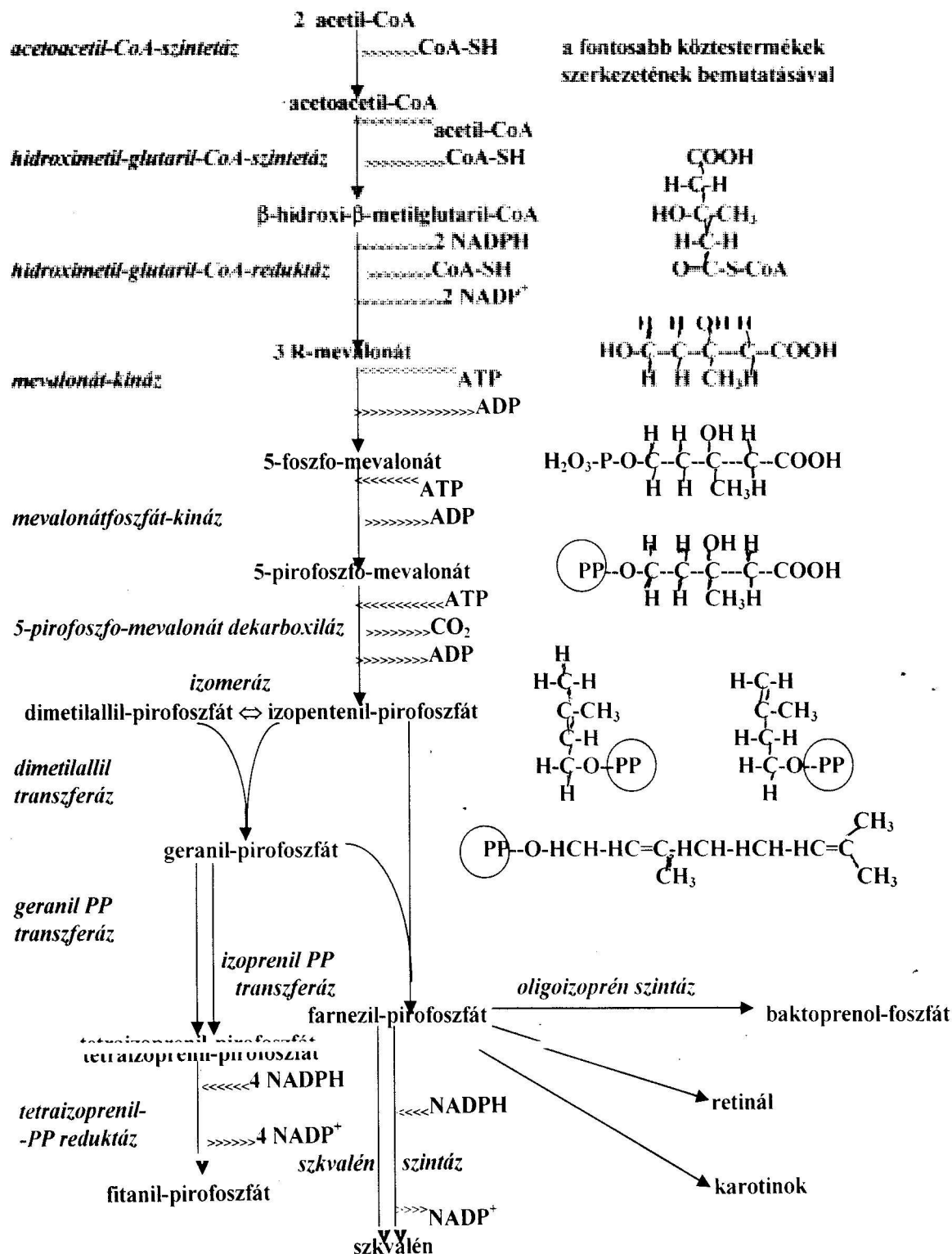
Az egyes rendszertani csoportok membránjuk felépítésében is erősen eltérnek egymástól. A halofil-membrán diétert tartalmaz. A metanogének membránjában már több-kevesebb tetraéter (C<sub>40</sub> bifitán) származék is található. (A legalább nyolc izoprén egységből felépült izopranillánc mindkét vége éterkötéssel kapcsolódik egy-egy glicerinhez.) Ezzel szemben a hő- és savtűrő fajokban a tetraéter építőelem mellett csak nyomokban mutatható ki diéter származék. --- A sejtfal soha sem érintkezik közvetlenül a mikroba környezetével. Fehérjetermészetű anyagok, illetve glükopeptidok lazább vagy kompaktabb mozaikszerűen elhelyezkedő rétege (fonata) látható az elektronmikroszkópos felvételeken. A sejt külső rétegében L-aminosavak; szénhidrátként arabinóz, galaktóz, glükóz, glükózamin és mannóz fordul elő jelentősebb mennyiségben.



Ősbaktériumokban előforduló  
fitán éter származékok

az X lehet hidrogén,  
cukor vagy foszforilezett  
származék

## IZOPRÉN-OLIGOMEREK BIOSZINTÉZISE



Az Ósbaktériumokat tanulmányozó kutatási programok keretében az extrém körülmények között, 100 °C felett, szélsőséges pH tartományban és nagy sókoncentrációt elviselve létező szervezeteknek az anyagcsere rendszerét, valamint a molekuláris mechanizmusát sokan vizsgálják. Ilyen vizsgálandó területnek tekinthető még a metanogenezis, vagy a rodopszinhoz kapcsolt energia és jelátviteli rendszer megismerése.

A Föld klimatikus viszonyaiban bekövetkező változás következményeként, az életkörülmények enyhülésével ezek a mikroorganizmusok biokémiai felépítettségükből következő kiváltságos helyzetüket elvesztették. Sőt, a fitanil éterszármazékok szintézisének energiaigénye, a létért való küzdelemben hátrányos helyzetbe juttatta őket a foszfogliceridekből építkező mikrobákkal szemben. (Egy foszfoglicerid egység 18 acetyl-CoA, 36 NADPH, 18 ATP és 1  $\alpha$ -glicerin foszfát felhasználásával készül!) A gazdaságosság elvének érvényesülésével csak azokon az élőhelyeken maradtak fenn, ahol a különleges felépítettségükből adódó helyzeti előnyük érvényesülhet.

A citoplazmamembránjuk felépítése (diéter, illetve tetraéter szerkezet) is homogén fenotipusként való besorolásukat indokolja. A sokszor kovalens kötésekkel stabilizált bipoláros membránszerkezet magas hőmérsékleten és erősen savanyú kémhatás esetén is akadályozza az iontranszportot.

A sejtmembránjuk glicerín-izopranil-éter, másnéven fitanil-éter (izopren egységekből felépülő, telített alkoholok glicerín étere) származékokból szerveződik. Egyetlen glicerín-bisz-fitaniléter képződéséhez 24 acetyl-CoA, 24 NADPH, 24 ATP és  $\alpha$ -glicerín-foszfát szükséges.

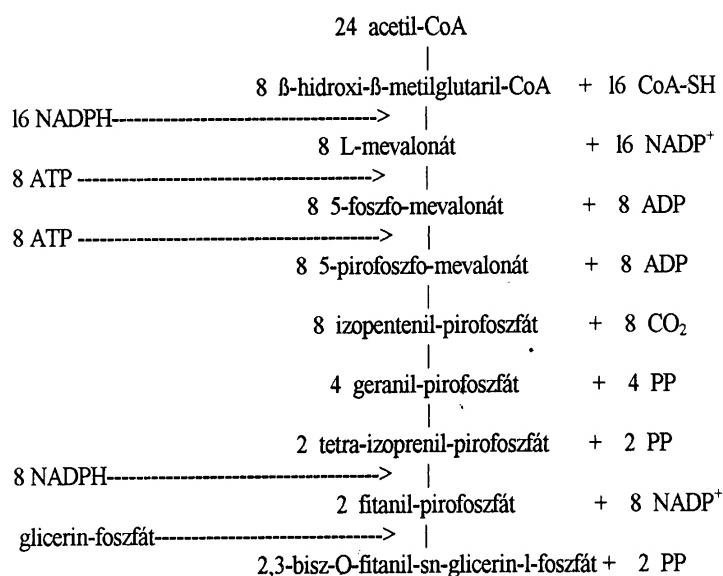
Ezek a vegyületek vízben a foszfogliceridekhez hasonló építőelemként vesznek részt az ősbaktériumok citoplazmájának a külvilágtól való elhatárolásában. A fitanilláncok egymás mellé csúsztatva fokozzák a membrán szerkezetének ellenállóképességét, hőtűrését, kémiai stabilitását. A glicerín két vicinális hidroxiljához kapcsolódnak az izopren egységekből felépült (telített  $C_{20}$  fitanil) izopranil láncok. A termofil törzsekben kis mennyiségben  $C_{25}$ ,  $C_{30}$ ,  $C_{35}$  izoprenoid-származékok is találhatóak. A glicerín harmadik szén atomjához hidroxil, hexit, foszfát, illetve oligoszacharidok kapcsolódhatnak. A hőtűrő *Sulfolobus* genus fajaiban például a glicerínhez egy hexit kapcsolódik C-C kötéssel és az így létrejövő

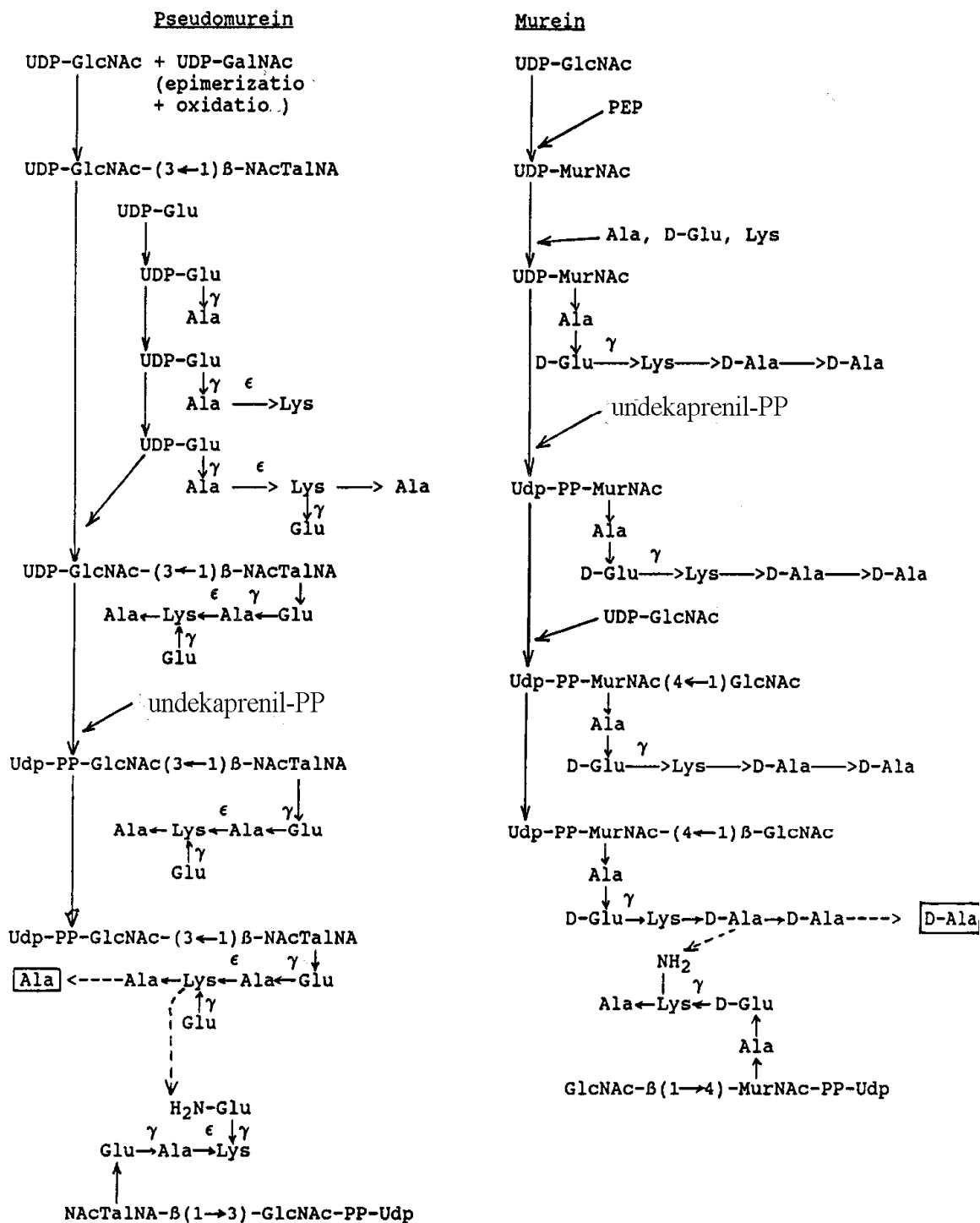
nonit alkotja a membrán építőelem poláros fejét. Az éterkötés kémiai stabilitása szélsőséges körülmények elviselését is lehetővé teszi. A membrán kémiai stabilitását fokozza a szemben elhelyezkedő fitanil-láncok közt kialakult kovalens kapcsolat, valamint a láncon megjelenő ciklopentán gyűrűk kölcsön hatása.

Az egyes rendszertani csoportok membránjuk felépítésében is erősen eltérnek egymástól. A halofil-membrán diétert tartalmaz. A metanogének membránjában már több-kevesebb tetraéter ( $C_{40}$  bifitan) származék is található. (A legalább nyolc izopren egységből felépült izopranillánc mindkét vége éterkötéssel kapcsolódik egy-egy glicerínhez.) Ezzel szemben a hő- és savtűrő fajokban a tetraéter építőelem mellett csak nyomokban mutatható ki diéter származék. Az egyes rendszertani csoportok membránjuk felépítésében is erősen eltérnek egymástól. A halofil-membrán diétert tartalmaz. A metanogének membránjában már több-kevesebb tetraéter ( $C_{40}$  bifitan) származék is található. (A legalább nyolc izopren egységből felépült izopranillánc mindkét vége éterkötéssel kapcsolódik egy-egy glicerínhez.) Ezzel szemben a hő- és savtűrő fajokban a tetraéter építőelem mellett csak nyomokban mutatható ki diéter származék.

Az ősbaktériumok sejtfalának felépítése változatos képet mutat. Közös bennük az eubaktériumoktól való lényeges eltérés. A sejtfalukban muraminsav nem fordul elő, növekedésük penicillinnel nem befolyásolható, de a lizozim sem károsítja őket. Peptidoglikán helyett egy pseudomureinnek nevezett kvázikristályos glükoprotein réteg tapad szorosan — periplazma megjelenése nélkül — a citoplazmamembránjukhoz. A szénhidrátláncokat kizárólag L-aminosavakat tartalmazó oligopeptidek kapcsolják össze. Az kétségtelen, hogy a Gram-pozitívan festődő metanogén ősbaktériumok sejtfala azonos mennyiségben tartalmaz N-acetyl-D-glükózamint (D-GlcNAc) és N-acetyl-L-talozaminouronsavat (L-NAcTalNUA). A két komponens  $\beta(1-3)$  glikozidos kötéssel kapcsolódva alakítja ki a szénhidrátpolimert, amit azután L-aminosavakból álló peptidek kapcsolnak össze..

#### Glicerín-bisz-O-fitanil-éter bioszintézise acetyl-CoA-ból



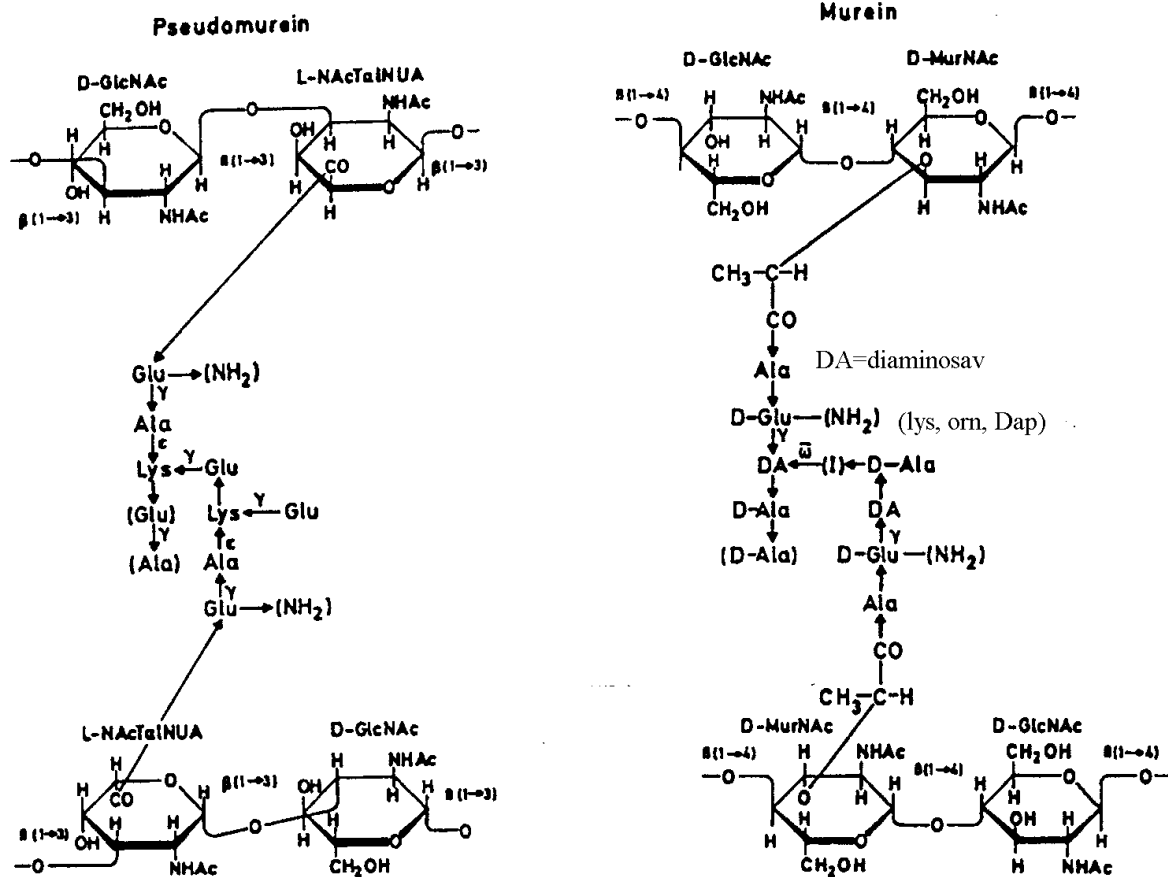


### A pseudomurein és a murein sejtfal képződésének vázlata

Az ábra az összehasonlíthatóság céljából bemutatja az eubaktériumok muraminsavat tartalmazó (murein) sejtfalának szerkezetét és az ősbaktériumokra jellemző pseudomurein fal szerkezetét.

Gram-pozitívan festődő metanogén ősbaktériumok sejtfala azonos mennyiségben tartalmaz N-acetil-D-glükóزامint (D-GlcNAc) és N-acetil-L-talóزامinouronsavat (L-NAcTalNA). A két komponens β(1-3) glikozidos kötéssel kapcsolódva alakítja ki a szénhidrát-polimert, amit azután L-aminosavakból álló peptidok kapcsolnak össze. Az uronsav karboxilcsoportjához kapcsolódik az L-glutaminsav aminocsoportja, az L-glutaminsav γ-karboxil csoportja pedig egy L-alaninon keresztül kapcsolódik az L-lizin ε-aminocsoportjához. Ezek a tripeptidok kapcsolódnak össze L-glutaminsav segítségével. A sejtfalban jelenlévő dikarbonsavak és diaminosavak funkcióscsoportjainak a részvétele egy igen ellenálló és nagyszilárdságú fal kialakulásának kedvez. Erre az ősbaktériumoknak élőhelyeik ismeretében szükségük is volt, de szükségük van ma is.

A cukorkomponensek UDP-aktivált formában vesznek részt a poliszacharid hálózat kialakításában. Az oligopeptid építőelemek összekapcsolásában fontos szerepet játszhat az L-alanin, mert a vizsgálatok szerint a keresztkötés kialakulásakor jelentős mennyiségű L-alanin és L glutaminsav jelenik meg a környezetben.



A sejtfal soha sem érintkezik közvetlenül a mikroba környezetével. Fehérjetermészetű anyagok, illetve glükopeptidek lazább vagy kompaktabb mozaikszerűen elhelyezkedő rétege (fonata) látható az elektronmikroszkópos felvételeken. A sejt külső rétegében L-aminosavak; szénhidrátként arabinóz, galaktóz, glükóz, glükózamin és mannóz fordul elő jelentősebb mennyiségben.

Gram-festődésük alapján az ősbaktériumok is két csoportra, festődőkre és nem festődőkre oszthatók. A festékkötésben mutatkozó különbség azonban megnyugtató módon ez ideig nincs okadatulva. A Gram-negatívan festődő ősbaktériumok proteáz-rezisztens tulajdonságukat ennek a mechanikai szempontból érzékeny és az ionerősség változására kényes felszíni glikoprotein S-rétegnek (surface layer) köszönhetik, amelyet többnyire a nátrium-laurilszulfát (SDS) is károsít. A monomereket gyengébb erők, sókötés, ionos kötés, hidrogén kötés vagy hidrofób kölcsönhatások kapcsolják egymáshoz, mégis az ősbaktériumok közé sorolt *Staphylothermus marinus* esetében például csak 70 °C-ra melegített hangyasav roncsolja szét ezt a fehérjeréteget.

**Nitrogénforrásként** szolgál számukra a karbamid és ammonia, *Methanobacter thermoautotrophicum* esetében a glutaminsav. --- A *Methanosarcina barkeri* nitrogén megkötést végző fehérjekomplexe molibdén helyett vanádiumot tartalmaz. Működését gátolja a wolfram.

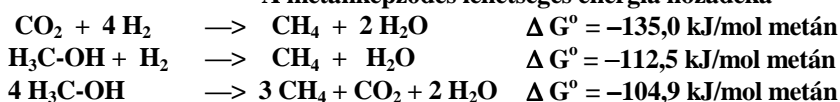
**Elektron forrásként** hasznosul a hidrogén

## METÁNTERMELŐK "METHANOBACTERIALES"

A Földünk légkörében előforduló metán 80-90 %-át a metanogének termelik energianyerő folyamatuk közben. Az évi metántermelés eléri a gigatonna nagyságrendet ( $10^{12}$  kg/év). A légkörben folyamatosan felszaporodó metán az ózonpajzsot a széndioxidnál nagyobb mértékben károsítja. A légkör metántartalmának monoton növekedését a metánhasznosító aerob baktériumok — tapasztalataink szerint — nem képesek megakadályozni.

Az idesorolt családok szigorúan anaerob, viszonylag lassú fejlődésű (2-7 nap osztódási idő) litotróf mikroszervezetek, morfológiai, biológiai és fiziológiai szempontból jelentősen különböznek egymástól. Közös tulajdonságuk, hogy anyagcseréjük végtermékeként metán képződik. Ez a folyamat anaerob légzésnek tekintve molekulánként gyakorlatilag egy-egy ATP szintézisét jelenti.

### A metánképződés lehetséges energia hozadéka

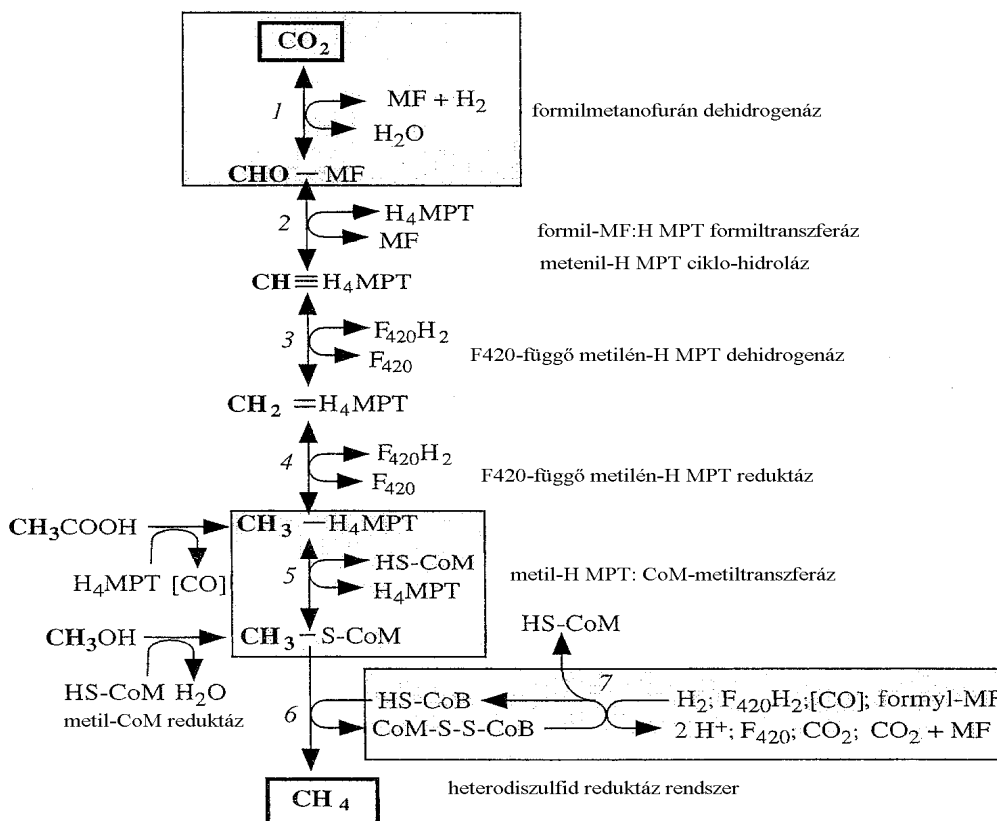


(1). A metánképződés *formát-dehidrogenáz* által katalizált — oxigénre különösen érzékeny — első lépése, a szén-dioxid megkötésével járó formilmetanofurán (CHO-MF) képződése. A szén-dioxid aktiválásához ATP jelenléte szükséges. Az aktiválási energia a metánképzés utolsó lépésében szabadul fel. *In vitro* kísérletben CoM-S-CH<sub>3</sub> vagy titán-citrát jelenléte szükséges redukáló ágensként.

(2). A formilcsoport a *formil-transzferáz* segítségével kerül a tetrahidrometanopterinre, ahol az első redukciós lépésben a *ciklohidroláz* hatására kialakul az 5,10-metenil-tetrahidrometanopterin (HC≡H<sub>4</sub>MPT) közttermék. Egyes fajokban az F<sub>342</sub> sárga színű, fluoreszkáló vegyületet mint formaldehid aktiváló faktort (FAF) írták le, amelyben a pterinen kívül építőelemként hexózamin, glutamát és foszforsav jelenlétét igazolták.

(3). A metenilcsoport redukcióját az F<sub>420</sub> kofaktorral működő *oxidoreduktáz* katalizálja 5,10-metilén-tetrahidrometanopteriné. (4). A következő lépésben a *metilén-reduktáz* hatására jön létre a metil-tetrahidrometanopterin (H<sub>3</sub>C-H<sub>4</sub>MPT).

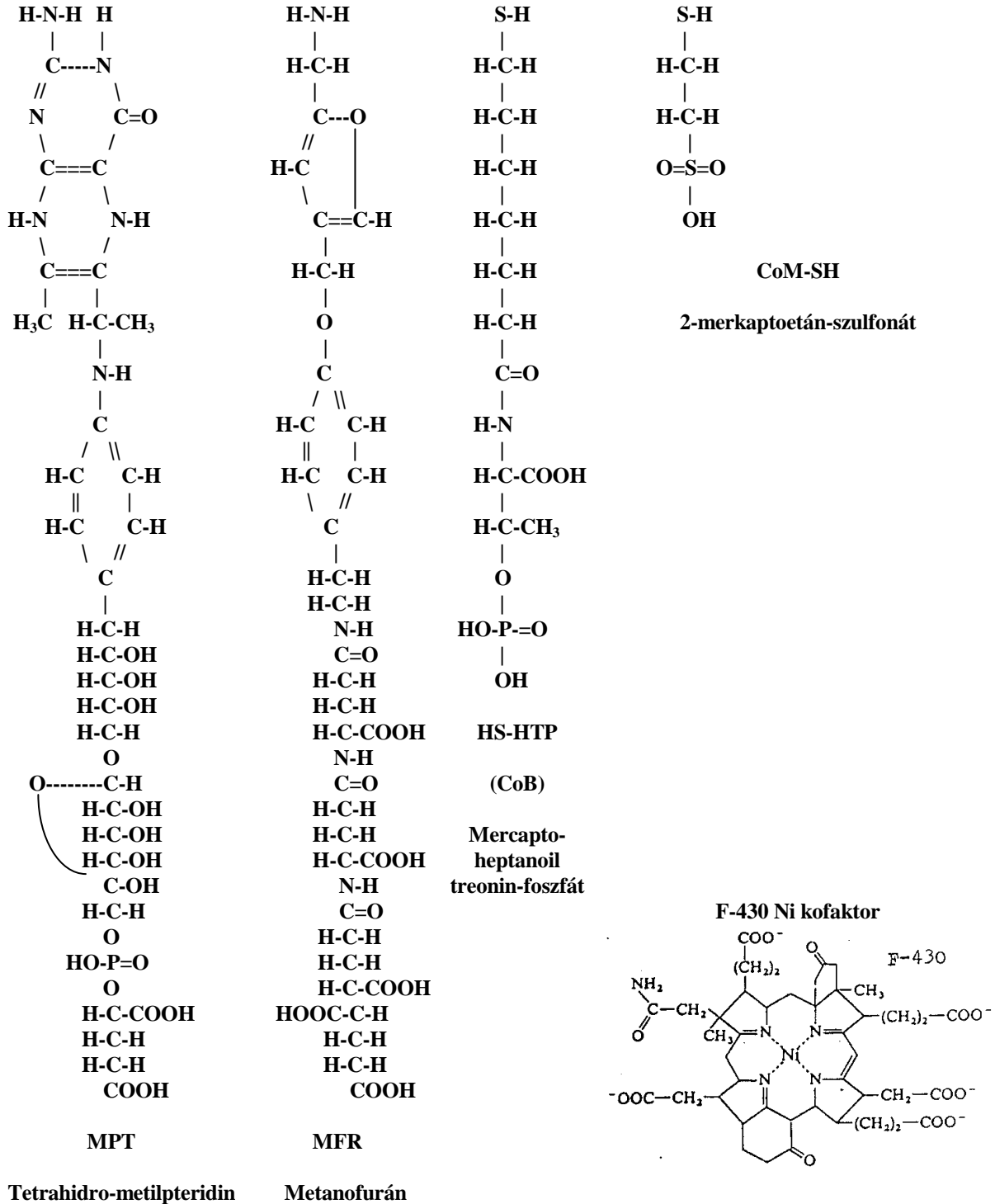
(5). A CoM-SH-ra történő metilátvitel folyamatában a metil-5-hidroxi-benzimidazoil- -kobamid kulcsintermedierként szerepel. A metilcsoport áthelyezését a pterinről kobamidra a *metil-transzferáz* segíti elő. A reakció szubsztrátumaként az enzim metanolt is képes hasznosítani. Ezekben a mikrobákban — metanolt használva elektronakceptorként — jelentősen növelhető a kobamid (korrinoid) tartalom a tenyészethez adott dimetil-benzimidazzal. Ezt a felismerést a B<sub>12</sub>-vitamin nagyipari előállításakor hasznosítják.



Metánképződés szén-dioxidból az ősbaktériumokban (CoM-SH szerepe)

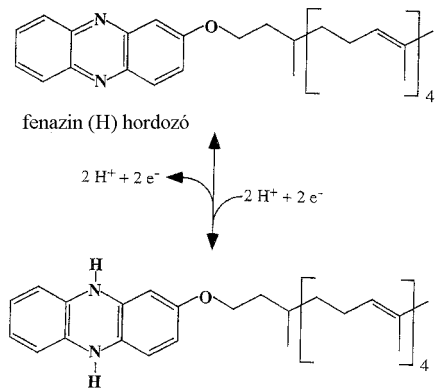
(6). A korrinoidtartalmú metiltranszferáz segítségével kialakuló metil-CoM a szubsztrátuma a redukciós ciklus utolsó lépésének, amelyben a F<sub>430</sub> kofaktorral működő metil-CoM reduktáz segítségével a metán felszabadulásával egyidejűleg heterodiszulfid, CoM-S-S-heptanoil-treonin-foszfát (CoM-S-S-CoB) képződik. Az utolsó redukciós lépésben metanofurán és széndioxid jelenlétében a diszulfid-kötés redukzív felhasadása és egy újabb széndioxid felvétele történik.

(7). A bonyolult folyamatot egy erősen konzervatív szekvenciájú, több fehérjéből álló *metil-reduktáz enzimkomplex* katalizálja, amelynek tömege a metanogén baktériumok összfehérje tartalmának több mint 10 %-át képviseli.



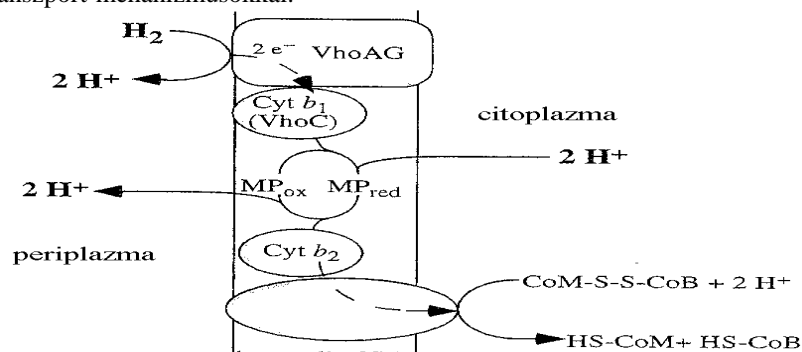
Az  $F_{420}$  kofaktort igénylő  $A_1$ -fehérje a CoM-S-S-heptanoil-treonin-foszfát redukcióját végzi. Az  $A_{3a}$  vaskén-fehérje szállítja az elektronokat a metilredukcióhoz. A metilviologént tartalmazó  $A_{3b}$ -fehérje dehidrogenáz aktivitást mutat. Az oxigénre nem érzékeny  $A_2$ -fehérje a metil-CoA metilreduktáz ATP-függő redukzív aktiválását végzi. A hat alegységből álló ( $\alpha_2\beta_2\gamma_2$ ) fehérje 2  $F_{420}$  kofaktort és 2 HS-CoM faktort tartalmaz.

A filogenetikailag különböző metanogének a szigorúan anaerob ősbaktériumok csoportját alkotják. A metánképződésnek az ábrán látható egyszerű útja ugyan nem jár szubsztrátszintű foszforilációval, de a protongrádiens ( $2 H^+$  és  $Na^+$ ) kialakítása az ATP szintézist lehetővé teszi. A metilotróf metanogének citokrómokat is tartalmaznak, A proton transzportot szolgáló (MP) metanofenazint a membránban izoprén

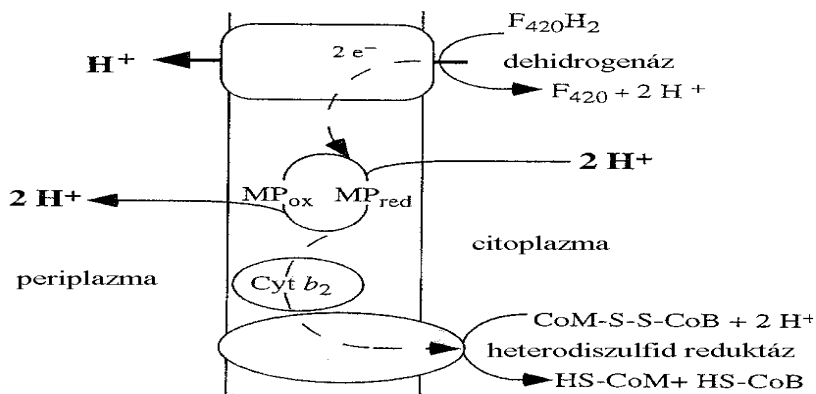


egységekből felépülő izooktán rögzíti. Szerepe a baktériumokban és az aerob ősbaktériumokban előforduló quinonokéhoz hasonlítható. Az oxidált forma reverzibilis redukciója ugyanis a citokrómok közötti elektron átvitelt segíti, miközben a citoplazmából ( $\Delta\mu H^+$ ) protont juttat a membrán külső felületére. Először *M. mazei*-ből izolálták tisztán ezt az elektronhordozót, amely a  $F_{420}$ -ról származó elektront továbbította a heterodiszulfid képződést katalizáló enzimhez. A redukáló rendszer elektron igényét többnyire a membránhoz kötött hidrogenáz elégíti ki. A hidrogén oxidációja a citoplazmamembránon kívül folyik. Ez az enzim a hidrogénről származó elektront az  $F_{420}$ -faktort (8-hidroxi-5-deazaflavin) tartalmazó enzimrendszerre viszi, amely redukálva szintelen, oxidált állapotban pedig zöldeskéken fluoreszkál. A

hidrogenotróf *Methanobacterium thermoautotrophicum* viszont nem tartalmaz ilyen fehérjét. A metánképződéssel együttjáró merkapto-heptanoil treonin-foszfátot tartalmazó heterodiszulfid (CoM-S-S-CoB) képződés az energiakonzerválás szempontjából figyelemre méltó. A membránhoz kötött heterodiszulfid reduktáz működése ugyanis kapcsolatot teremthet különböző membránban működő elektrontranszport-mechanismusokkal.



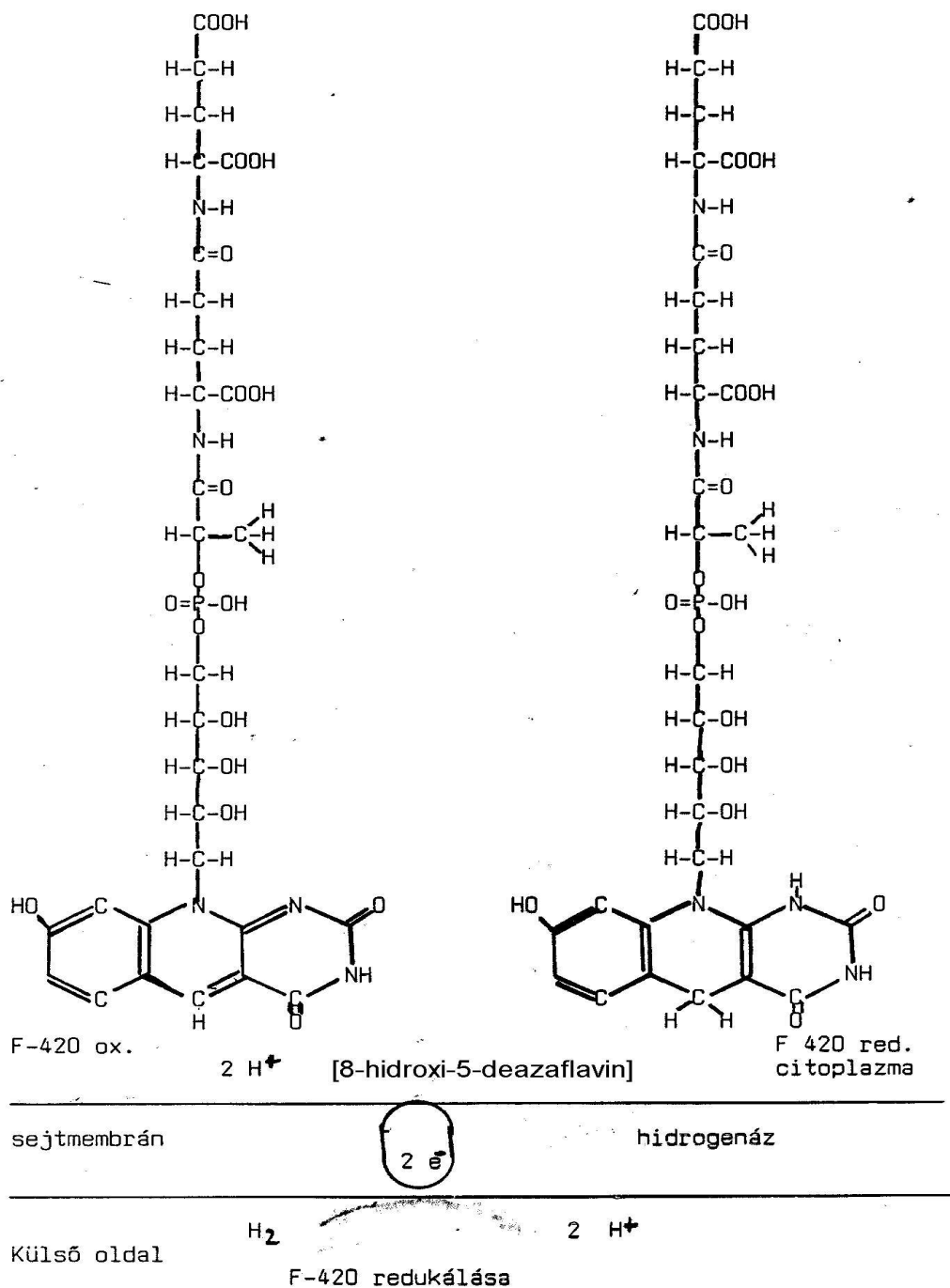
A heterodi-szulfidnak a *M. mazei* befördített vezikulumaiban folyó hidrogénfüggő redukciója protonképződéssel jár. A visszafördített vezikulumban az  $F_{420}$  dehidrogenáz működése eredményezi a kiválasztásra kerülő proton, a  $\Delta\mu H^+$  felszaporodást és ennek következményeként ATP képződést. Ez utóbbit természetesen a protonofórok gátolják, viszont serkentik az elektrontranszportot – azaz a heterodiszulfid redukcióját – sőt az ATPáz gátlóként használt  $N,N'$ -diciklokarbodiimid hatása is felfüggeszthető protonofórok adagolásával.



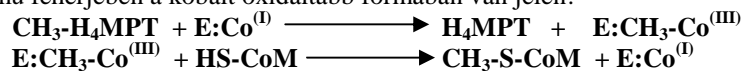
A szén-monoxid szén-dioxiddá alakulása *M. barkeri* nyugvó sejtjeiben ATP képződéssel jár. Az enzimhez kötött CO ferredoxinhoz kötött oxidációját a szén-monoxid dehidrogenáz katalizálja. A képződő redukált ferredoxinról a két elektront a ferredoxin:metanofenazin-oxidoreduktáz a citokrómok segítségével juttatja a heterodiszulfid-

reduktázhoz, amely regenerálja a 2-merkaptotéanszulfonátot, ismert nevén CoM-SH-t. Az ősbaktériumokból és az eubaktériumokból is izoláltak (*Methanobacterium thermoautotrophicum*, *M. barkeri*, *M. mazei*, *Acidianus ambivalens*, *Sulfolobus acidocaldarius*, *Methanosarcina thermophila*,) heterodiszulfid reduktázokat.

**A hidrogenáz 8-hidroxi-5-deazaflavin alkotórésze hasznosítja a H<sub>2</sub>-t elektron forrásként**

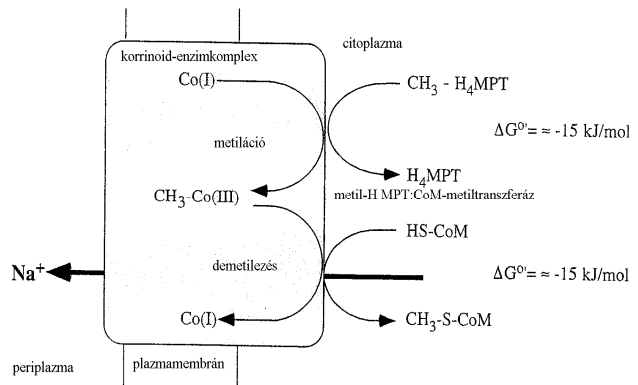


Az enzimhez kötött corrinoid szerepét a metil-H<sub>4</sub>MPT:CoM-metiltranszferáz katalizálta reakcióban *M. barkeri* metanogenezisét vizsgálva tisztázták. Az enzimkomplexet *Methanobacterium thermoautotrophicum*-ból is kinyerték, majd 8 alegységének tömegét meghatározták. A hidrofób komplex 2 mol korrinoidot, 8 mol nemhemvasat és 8 mol savérzékeny kénzt tartalmaz. A metil átvitel valójában két részreakcióként — a korrinoidot tartalmazó fehérje metilezési és egy demetilezési folyamatként — jelenik meg. Megjegyzendő, hogy a metilezett korrinoidtartalmú fehérjében a kobalt oxidáltabb formában van jelen!

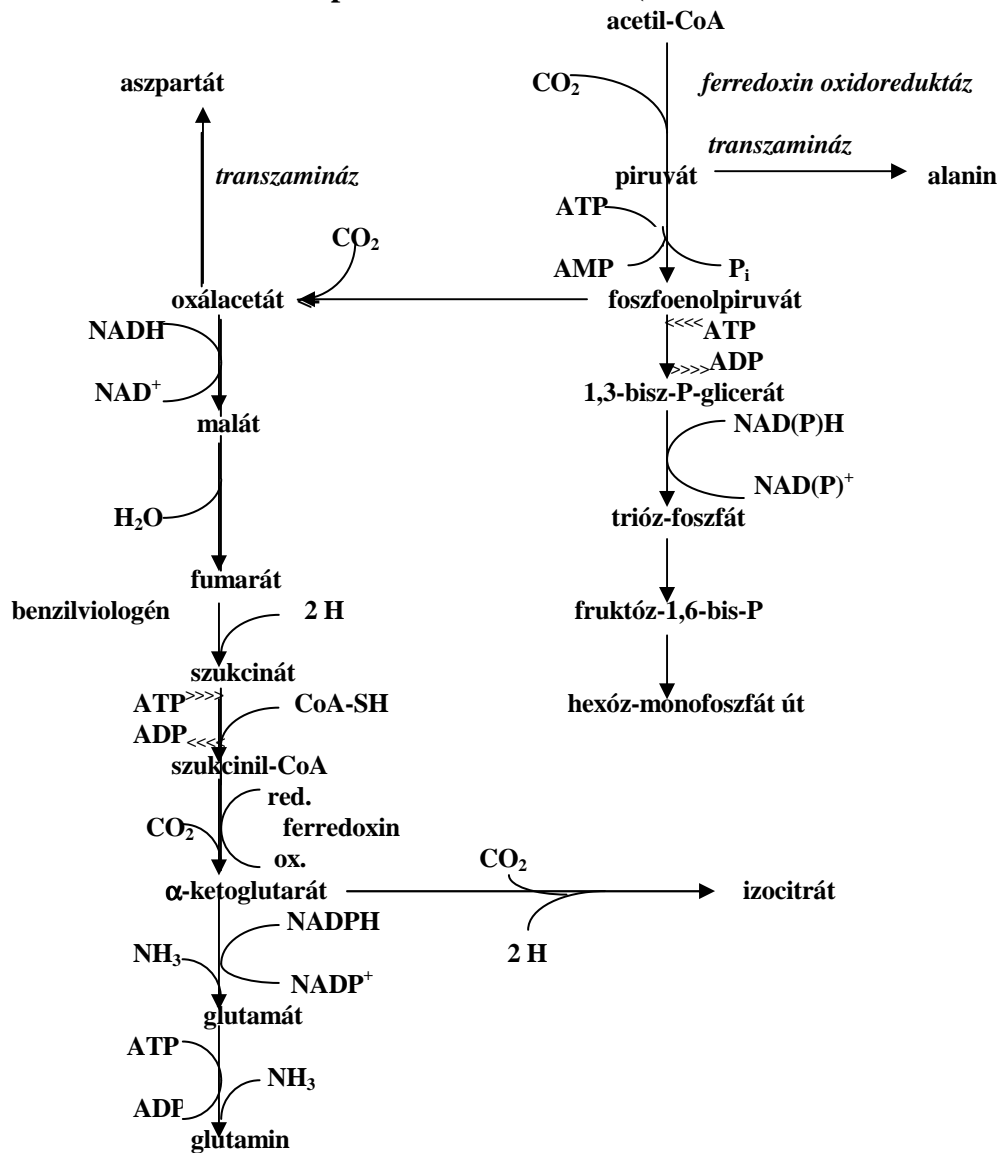


Sikerült igazolni, hogy az egy operonba szerveződött gének (*mtrEDCBAFGH*) közül az *mtrD* alegység a  $\text{Na}^+$  transzportért felelős. A demetilációs reakció a  $\text{Na}^+$  transzportban játszik fontos szerepet. A kialakuló iongrádiens összességében ( $\Delta\mu_{\text{Na}^+}$  és  $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ ) táplálja a metanogének ATP szintézisét.

A metánképződés enzimszisztémájának *in vitro* működése szempontjából optimális  $\text{CO}_2:\text{H}_2$  arány 2 : 8 volna. Ezt a kedvező arányt a természetes tenyésztési körülmények nem biztosítják, de a hidrogén koncentrációja sem éri el természetes körülmények között a  $\mu\text{M}$  nagyságrendet. Természetes élőhelyükön a velük élő hidrogéntermelők szolgáltatják a szubsztrátumot. Kloroformmal, mint metánanalóggal a metánképződést és az ATP szintézist egyidejűleg lehet gátolni. A kérdés az, hogy ilyen esetben szén-dioxidot és hidrogént bőfögnek metán helyett. A metilreduktáz működése CoM-analóggént adagolt 2-brometánszulfonáttal szelektíven gátolható. Megfelelő kezeléssel azonban rezisztencia fejleszthető ki ellene.



### A szénváz képződése széndioxidból (a redukzív citrátkör működése)



A tápközegben jelenlevő szénhidrátot ezek a mikrobák nem képesek felvenni. A szervezetük felépítéséhez szükséges szénvegyületeket maguk állítják elő. Szubsztrátumként hidrogén, széndioxid, formaldehid, acetát, metanol, metilamin szerepelhet. Korrinoidot tartalmazó transzferáz közvetít a metanogenezis enzimszisztémájának és az anabolikus

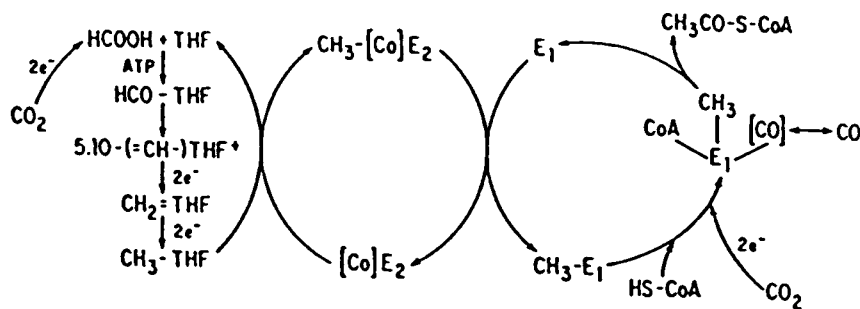
folyamatokat tápláló szénmonoxid dehidrogenáz között, amely a köztes anyagcserét táplálva adja meg a lehetőséget az ősbaktériumok növekedéséhez szükséges vegyületek szintézisére.

A *Methanobacterium* fajok növekedési sebességét - a sejt felépítéséhez szükséges vegyületek (szénváz) képződésének a sebessége (glükóz neogenezis) - a dikarbonsav-ciklust tápláló acetyl-CoA képződés határozza meg. A szénhidráttermelés esetenként glükogén felhalmozását is lehetővé teszi (*Methanobacterium* spp.).

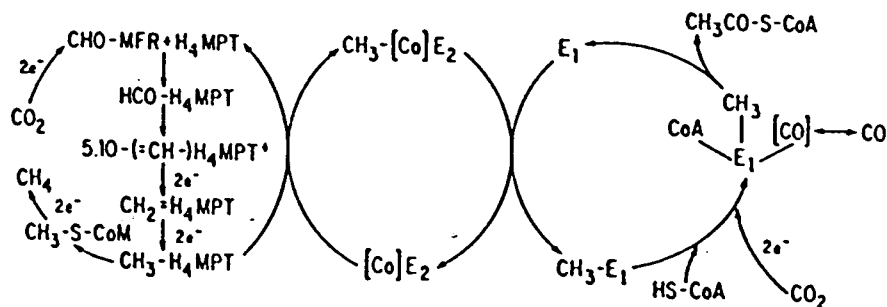
A széndioxidot általában nem a Calvin-cikluson keresztül kötik, hanem a redukív-citromsav ciklusban ferredoxin segítségével karboxileződik az acetyl-CoA, majd a foszfoenol piruvát és a szukcinil-CoA vesz fel széndioxidot.

Az ősbaktériumok és az anaerob baktériumok között az acetyl-CoA úton a CO<sub>2</sub> aktiválásában lehet eltérés. A *Clostridium thermoaceticum* esetében a hangyasav dehidrogenáz és a formiltetrahydrofolát képződés energiaigényét az ATP hidrolízise szolgáltatja. Megfordítva pedig a formiltetrahydrofolát oxidációja szubsztrátszintű foszforilációval ATP képződését katalizálja. A széndioxidból induló közvetlen acetyl-CoA képződés részleteit eddig nem sikerült teljesen tisztázni. Több esetben a szénmonoxid hasznosítását bizonyították. Egyre több adat igazolja, hogy a metanogénekben az ecetsavat termelő *Clostridium thermoaceticum* autotróf széndioxid-fixálásához hasonló rendszer működik. Ezt az autotróf utat járják a szulfátredukálók is.

#### A *Clostridium thermoaceticum*

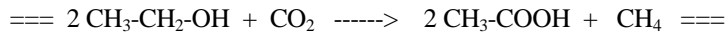


#### B *Methanobacterium thermoautotrophicum*

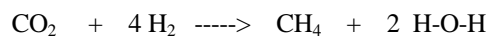
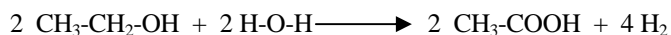


A *Methanobacterium thermoautotrophicum* esetében a CO<sub>2</sub> és H<sub>2</sub> felhasználásával ATP jelenlétében képződő hangyasavból származó formil-csoport kötődik a tetrahydropterinre, amelyen végbemegy a redukció. A metil-tetrahydropterinről egy korrinoidot tartalmazó enzim közvetíti a metilcsoportot egy Ni,Fe tartalmú szénmonoxid dehidrogenázra, amelyen egy széndioxid felvételével és redukációjával készül az acetyl-CoA végtermék.

Régebbi tankönyvek szerint a *Methanobacillus omelianskii* az etanolt is képes hasznosítani.



A részletes vizsgálatok azonban kiderítették, hogy a metánképződéshez a hidrogént, a bendő kevert baktérium flórájában jelenlevő, etanolt oxidáló anaerob baktériumok szolgáltatják. (Ha a metánképződést specifikusan gátló kloroformot juttatunk a rendszerhez, akkor a bendőben csak hidrogén és széndioxid gáz képződését észlelhetjük.)



Nitrogénforrásként jól hasznosítják az ammóniát. Egyesek, például *Methanobacter thermoautotrophicum* egyedüli szerves nitrogénforrásként képes hasznosítani a glutaminsavat. Több esetben a karbamid hasznosíthatóságát is megfigyelték. Néhány törzsük képes a légköri nitrogén megkötésére is. A *Methanosarcina barkeri* molibdént

tartalmazó nitrogénkötő enzimrendszerének a működését a wolfrám gátolja, a vanádium pedig helyettesítheti az enzimkomplex molibdén-kofaktorát. Az ammónia csökkenti a nitrogénáz enzimkomplex aktivitását. Kiemelendő, hogy a *nif*-gének szekvenciája nagyfokú egyezést mutat az eubaktériumokban megismert *nif*-gén szerkezetével.

#### Metanogének (Methanobacteriales) fontosabb csoportjainak összehasonlítása

Nemzetség	Membrán építőelem	Sejtfalszerkezet	Gram-festődés	Mozgás
<i>Methanobacterium</i>	C <sub>20</sub> di- és C <sub>40</sub> tetraéter	Pszeudomurein	+	-
<i>Methanobrevibacter</i>	C <sub>20</sub> di- és C <sub>40</sub> tetraéter	Pszeudomurein	+	-
<i>Methanococcus</i>	C <sub>20</sub> diéter	Fehérje,glükózamin	-	+
<i>Methanospirillum</i>	C <sub>20</sub> di- és C <sub>40</sub> tetraéter	Glikoprotein	-	+
<i>Methanosarcina</i>	C <sub>20</sub> diéter	Heteropoliszacharid	+	-

**Methanobacteriaceae** Anaerob, termofil, nem mozgó pálcák; 70 °C felett nem növekednek. Tavak üledékében, szennyvizek fenekén összegyűlő iszapban, mocsarakban élnek. Biogáztelepek baktérium- flórájában is megtalálhatóak. Gram-pozitívan festődnek. Pszeudomurein sejtfaluk építőelemei között N-acetilglükózamin, N-acetilgalaktózamin, N-acetilalózamin-uronsav, L-lizin, L-alanin, L-treonin, L-glutaminsav fordul elő számottevő mennyiségben. Kromoszómájuk mérete az ősbaktériumokra jellemzően csupán 1,2x10<sup>9</sup> Da.

Az idesorolt *Methanobacterium thermoautotrophicum* a család feltűnően gyorsan osztódó (20 perc generációs idő) képviselője. Egyszerű és gyors tenyésztetősége miatt ez a mikroba a metanogéneket kutató laboratóriumok kedvelt kísérleti alanyává vált. — Biokémiai tulajdonságait részletesen vizsgálták. Ez a faj csupán szerves anyagokból (CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, S<sup>0</sup>, H<sub>2</sub>) képes szerkezetét felépíteni, szulfátot azonban nem hasznosít. A citrát-ciklusa hiányos. A széndioxid beépítésében fontos szerepet kap a Koenzim-F<sub>420</sub>. A széndioxidból történő acetyl-CoA képződés mechanizmusára vonatkozó vizsgálatok ez ideig eredményt nem hoztak. Külön említést érdemel a jelentős mennyiségben feldúsuló ciklikus D-2,3-biszfoszoglicerát, amelynek azonban élettani szerepét eddig nem sikerült kideríteni. Leigh 1983-ban koenzim- és vitamintartalmukat is meghatározta. (Appl. Environ. Microbiol. 45:800-803)

Koenzim-M	0,3 - 16 mmol/g
Koenzim F <sub>420</sub>	0,7 - 2,7 "
Metanopterin	0,7 - 1,3 "
F <sub>430</sub> faktor	0,2 - 0,8 "
Metanofurán	0,3 "
Korrinoidok	0,1 - 4 "

Elenyészően csekély mennyiségben az eubaktériumokban előforduló vitaminokat is sikerült kimutatni. Vizsgálatai szerint ezek a vegyületek a az ősbaktériumokban is az eubaktériumokban felderített mechanizmushoz hasonló módon képződnek. A porfirin, korrinoid és F<sub>430</sub> faktor képződését például az eubaktériumokban megfigyeltekhez hasonlóan a levulinsav szabályozza, mégpedig olyan módon, hogy represszálja a δ-aminolevulinsav-dehidráz képződését. — A család tehenek bendőjéből izolálható faja a *Methanobacterium ruminantium*. A mérések szerint 1,7 mM acetát hasznosításakor 100 millió baktérium képződik 1 ml bendőtartalomban. Gyakran találkozunk vele különböző anaerob protozoonok citoplazmájában. Például a bendőben élő *Selenomonas ruminantium* citoplazmájában ml-ként 10<sup>10</sup> *M. ruminantium* termeli a metánt. Ebből a baktériumból kinyert ATP-függő metil-CoM-metilreduktáz sejtmentes körülmények között is hosszabb ideig működőképes.

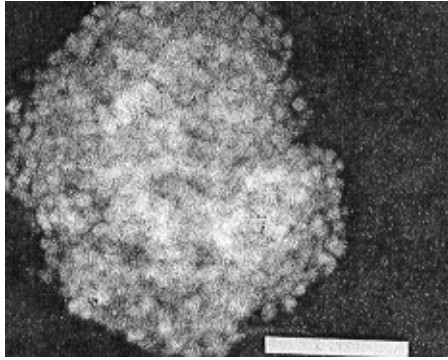
A **Methanothermaceae** család *Methanothermus* fajtái 80 °C feletti hőmérsékleten növekedve széndioxidból és hidrogénből metánt termelnek.

A **Methanococcaceae** családba sorolt mozgékony, anaerob *Methanococcus* fajok hidrogént és széndioxidot hasznosítanak, 85 °C-on is életben maradnak, de csak 60 °C-on osztódnak. Mindkét családra jellemzően a pszeudomurein sejtfaluk külső felületét egy proteázzal nem bontható fehérjeréteg alkotja. Gram pozitívan festődnek.

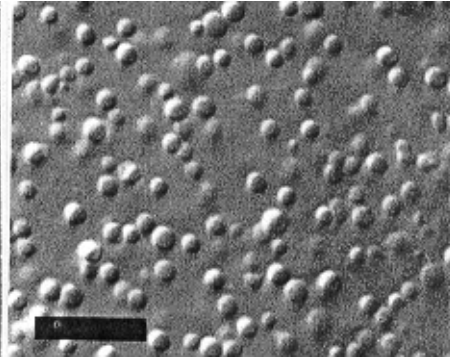
A **Methanomicrobiaceae** család egyes tagjai (*Methanomicrobium mobile*) élőhelyükön a bendőben, poláris ostorral mozognak, de csak 40 °C-on szaporodnak. A *Methanospirillum* külső felületén az SDS (nátrium-laurilszulfát) lazító hatásának és a proteázok hidrolitikus hatásának ellenálló, urea- és lúgrezisztens fibrilláris fehérjeréteg található. A bifitanil-diglicerol-tetraéter elemekből felépülő membrán hidroxilcsoportjához glikozidos kötéssel kapcsolódó diszacharidok, más esetben α-glicerofoszfát található.

A *Methanogenium* és *Methanospirillum* fajok főleg csatornaiszapból izolálhatók.

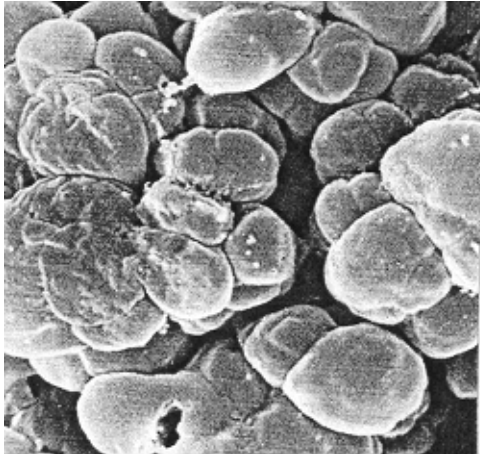
A **Methanosarcinaceae** család *Methanosarcina* fajtái szennyvíziszapban és a bendőben fordulnak elő. Az elektronmikroszkópos felvételeken lemezes szerkezetűnek tűnő — főleg galaktózamint, glükuronsavat és galaktózamino-uronsavat tartalmazó — különösen merev szerkezetű, savanyú természetű heteropoliszacharid sejtfallal rendelkező *Methanosarcina* fajok Gram szerint pozitívan festődnek. — A *Methanococcus* fajok fehérjéből felépülő sejtfalában a glükózamin is fontos szerepet tölt be. A család tagjaiban citokromok jelenlétét igazolták. A légköri nitrogént is képesek megkötni, de legnagyobb sebességgel (2 nap generációs idő) a széndioxidot és hidrogént tartalmazó közegben osztódnak. Az acetátot foszfoacetyl-transzferáz segítségével hasznosítják. Sejtfalukban aminocukor, cukor és uronsav található. Metilalkoholból és acetátból is képeznek metánt. A *Methanosarcina barkeri* részletes enzimológiai vizsgálata igazolta, hogy ez esetben az α-ketoglutarát citromsavon keresztül képződik.



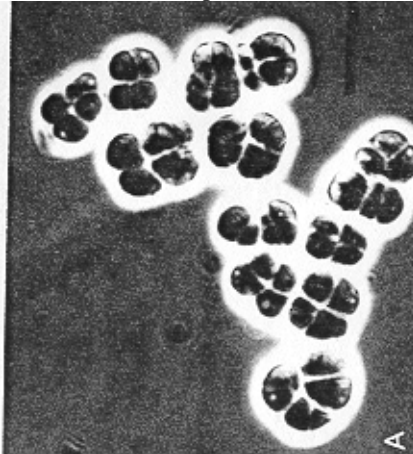
*Methanosarcina mazei* mikrofotó



Normarski optikával fotózva



Scanning elektronmikroszkópos fotó



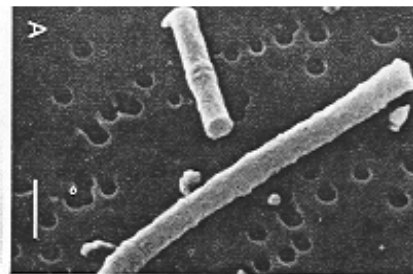
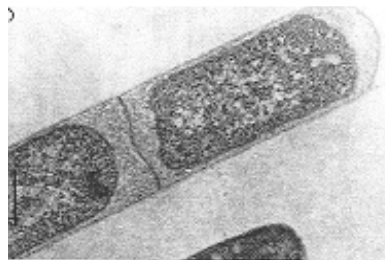
*Methanosarcina barkeri*

A *Methanolobus* és *Methanotrix* fajok sejtjei hosszú láncokat alkotnak. Lassan osztódnak (7 nap generációs idő). A sejtfaluk külső fehérjerétege nátrium-laurilszulfáttal lemozdítható. Szénforrásként acetátot hasznosítanak, mégpedig az acetil-CoA szintetáz segítségével. Tartalék tápanyagként polifoszfátot és glükogént halmoznak fel. A *Methanococcoides* fajok metanolból is képesek felépíteni a szervezetüket.

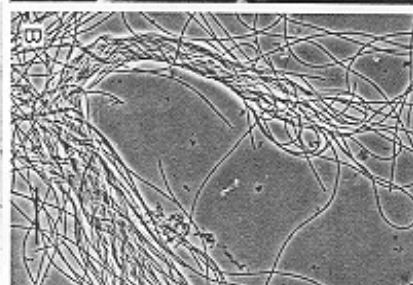
A **Methanoplanaceae** család kemotróf tagjai peritrich ostorokkal mozgó, széles, lapos testecskék formájában találhatóak mocsaras területeken. Metanolból nem képesek metánt termelni. Az idesorolt kemoorganotróf *Methanosphaera* fajok viszont csak metanolból képesek hidrogén jelenlétében metánt termelni; széndioxidból nem.

*Methanotrix soehngenii*  
fonaldarab elektronmikroszkópos  
fotója 0,4  $\mu\text{m}$ ;

Scanning elektronmikroszkóppal  
készült fotó 1,3  $\mu\text{m}$



Lizáló sejt elektronmikroszkóppal  
fotózva 0,4  $\mu\text{m}$



Fáziskontraszt mikroszkópi fotó  
45  $\mu\text{m}$

## SZULFÁTREDUKÁLÓ ŐSBAKTÉRIUMOK

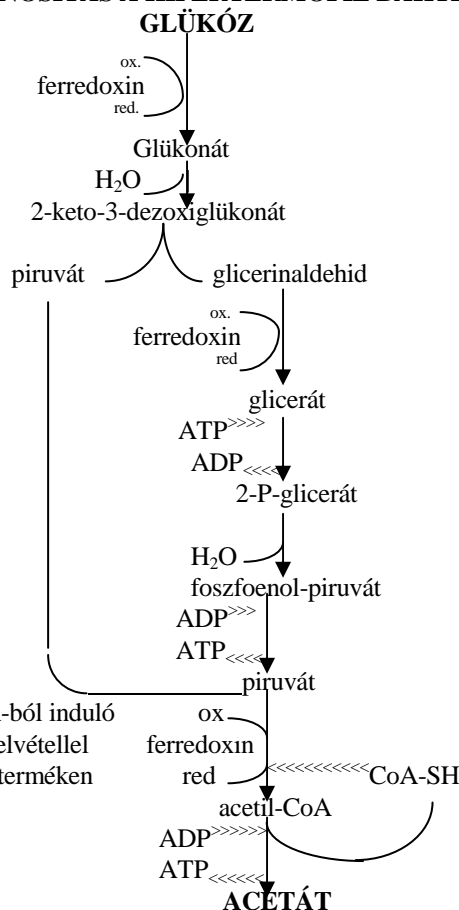
A típusörzsként számontartott és az F<sub>420</sub>-tartalomnak megfelelően kékeszölden fluoreszkáló *Archaeoglobus fulgidus* a víz forráspontján (92-100 °C) is jól tenyészhető. Gram-negatív festődésű sejtfa glükoprotein egységekből épül fel. Elektrononorként hidrogént, tejsavat és glükózt is képes hasznosítani! Elektronakceptorként szulfátot használ.. Elemi ként viszont nem képes redukálni (Syst. Appl. Microbiol. 10:172-73, 1988).

### ERŐSEN HŐTŰRŐ KÉNHASZNOSÍTÓK (Aerobiózis az ősbaktériumokban)

Aerobiozisiról az élet kezdeti formájának a megjelenésekor az akkor uralkodó hőmérsékleti viszonyok mellett aligha beszélhetünk. Mégis a heterotrófok és a kénhasznosítók között találunk olyan fajokat, amelyek növekedését a légkör oxigéntartalma nem zavarja. Természetesen a forró vízben oldott oxigén elenyészően csekély. Táblázatba foglalva célszerű összehasonlítani áttekinteni azoknak az átalakulásoknak a szabadenergia értékeit (-ΔG°' kJ/mol), amelyek a növekedésben levő ősbaktériumokban az aerob és anaerob légzés körülményei között hasznosulnak.

Az összehasonlítandó redoxirendszerek	-ΔG°'
H <sub>2</sub> + 1/2 O <sub>2</sub> → H <sub>2</sub> O	236.6 kJ/mol
2 S° + 2 H <sub>2</sub> O + 3 O <sub>2</sub> → 2 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.014.0 kJ/mol
2 FeS <sub>2</sub> + 2 H <sub>2</sub> O + 7 O <sub>2</sub> → 2 FeSO <sub>4</sub> + 2 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.498.9 kJ/mol
[H] <sub>2</sub> -X + 1/2 O <sub>2</sub> → H <sub>2</sub> O + X (X=NADH <sub>2</sub> , QH <sub>2</sub> , szukcinát,.)	219.0 kJ/mol
S° + 2[H] → H <sub>2</sub> S	33.5 kJ/mol
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> + 8[H] + 2 H <sup>+</sup> → H <sub>2</sub> S + 4 H <sub>2</sub> O	151.7 kJ/mol
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 8[H] + 2 H <sup>+</sup> → NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + 3 H <sub>2</sub> O	598.7 kJ/mol
2 NO + H <sub>2</sub> <sup>+</sup> + 2 e <sup>-</sup> → N <sub>2</sub> O + H <sub>2</sub> O	305.9 kJ/mol
N <sub>2</sub> O + H <sub>2</sub> <sup>+</sup> + 2 e <sup>-</sup> → N <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O	341.1 kJ/mol

### GLÜKÓZHASZNOSÍTÁS A HIPERTERMOFIL BAKTÉRIUMOKBAN



[Az eubaktériumoknál az acetyl-CoA-ból induló acetátképződés anorganikus foszfátfelvétellel acetyl-foszfát vegyesanhidrid köztes termékén keresztül megy végbe.]

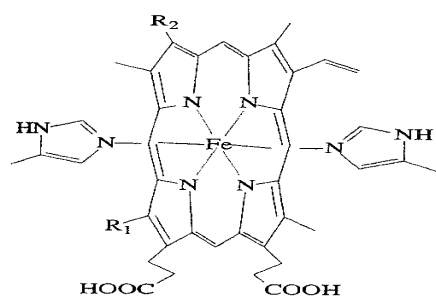
Az *Acidianus infernus*, *A. brierleyi*, *A. ambivalens* obligát kemolitoautotróf módon növekedve CO<sub>2</sub>-ből építi fel szervezetét. Az ugyancsak obligát aerob autotróf *Sulfolobus acidocaldarius* kezdetben ként használt fel elektronakceptorként. Több *Sulfolobus* és *Acidianus* törzset izoláltak, amelyek molekuláris hidrogént oxidálják aerob módon 0.2-0.5% O<sub>2</sub> jelenlétében. Az extrém termofil és extrém acidofil törzsek között is találunk aerob körülményeket kedvelő fajokat *Pyrobaculum aerophilum*, *Picrophilus torridus*. Ez utóbbi faj optimális növekedését 1 pH-nál mérhetjük, miközben a citosol közel semleges. Tapasztalat szerint minimális oxigén

jelenlétében az extrém sótűrő *Halobacterium* és *Haloferax* nemzetség egyes törzsei is képesek növekedni, sőt ezek között nitrátredukáló fajok (*Haloferax denitrificans*) is akadnak. A **Thermococcales** rend tagjai mozgékony, ostoros, anaerob, ovoid alakú élőlények; 88 °C felett 100 °C-on érzik jól magukat. Heterotrófok. Az elemi kén kénhidrogénné redukálják, szénforrásként széndioxidot asszimilálnak. A **Thermococcaceae** családnhoz tartozó 95 °C-on növekedő *Thermococcus* és a 100 °C-on növekedő *Pyrococcus* fajok a tengeralatti kénkiválások környékét népesítik be. 30-40 perc alatt osztódnak. Gram-negatívan festődő, kén és hidrogén hasznosítására képes kemolitotróf baktériumok. A kén elektronakceptorként hasznosítják.

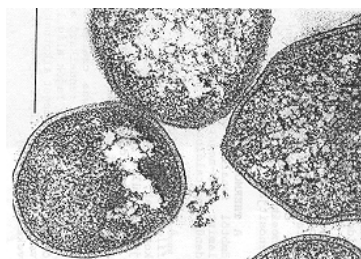
A **Thermoproteales** rend kemolitotróf fajaira az alaki (gömbtől fonalgig) és méretbeli (0,5 µm - 100 µm) variáció, valamint Gram-negatív festődés jellemző. Izlandtól Új-Zélandig mindenütt megtalálhatók.

A **Thermoproteaceae** család fajai (pl: *Thermoproteus*, *Thermofilum*) olyan, akár 0,5 µm vékony, 100 µm hosszú fonalakat is alkothatnak, amelyek végén egy-egy jellegzetes gömböcske látható. Sejtfaluk külső rétegét SDS-tűrő glükoprotein-réteg alkotja. 90 °C-on szaporodnak. A *Thermoproteus tenax*-ban négy, fonalas szerkezetű fagot fedeztek fel (Mol. Gen. Genet. 192:39-45. 1983).

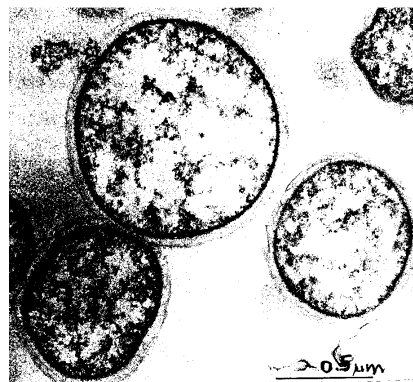
A **Desulfurococcaceae** család fajai 85°C-on jól növekedő heterotróf ősbaktériumok. Ostorral rendelkező alakjaik is ismertek. A *Staphylothermus* fajok alig 1 µm méretű kokkuszkökből álló, szőlőfürtszerű sejttömeget alkotnak minimál táptalajon. Élesztőkivonattal dúsított tápközegben, 92 °C-on viszont óriás sejtekké növekednek (15 µm). A szulfátredukáló, sótűrő és hőtűrő ősbaktériumokban működő, a fehérje imidazol gyűrűihez kapcsolódó hem oldallánc minőségében észlelt, a nemzetségektől függő eltérést foglalja össze a táblázat



heme	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	species
B	CH <sub>3</sub>	-	<i>Sulfolobus</i> , <i>Halobacterium</i> , <i>Natronobacterium</i>
OT	CH <sub>3</sub>		<i>Thermoplasma</i>
As	CHO		<i>Sulfolobus</i> , <i>Halobacterium</i> , <i>Natronobacterium</i> , <i>Acidianus</i>
OP <sub>1</sub>	CH <sub>3</sub>		<i>Pyrobaculum</i>
OP <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>		<i>Pyrobaculum</i>



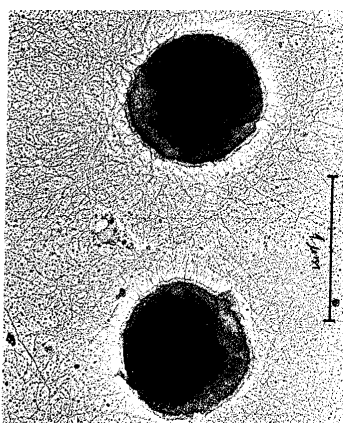
*Acidianus infernus* (0,5 µm)



*Staphylothermus marinus*



*Desulfurococcus mobilis*



*Desulfurococcus* nyálkás fonalas hálózatban

A **Pyrodictiales** rendbe sorolt *Pyrodictium* fajok magasabb hőmérsékleten (105-110 °C), akár 12 % konyhasó jelenlétében is jól szaporodnak. Izolálásuk nem könnyű. A forró tengerfenékről az anaerob körülményeket megtartva kivett mintát 80 % hidrogént és 20 % széndioxidot tartalmazó atmoszférában, kénport tartalmazó tengervízben, 300 kPa nyomáson, 105 °C-on kell inkubálni saválló bélással védett acéledényekben (Nature 300:258-60. 1982).

A **Sulfolobales** rend fajai erősen savanyú (pH = 2) tápközegben, a kénkristályok felületén élő, kissé eltorzult kokkusz formájú aerob, illetve fakultatív anaerob mikroorganizmusok. Sejtmembránjukat lipoproteint, aminocukrot és semleges szénhidrátot tartalmazó polimer borítja. A ként kénsavvá oxidálják. Ezek a hipertermofil ősbaktériumok a szénhidrátot (glükózt) foszforilezés nélkül is képesek oxidálni. A glicerinsavból ATP felhasználásával képződő 2-P-glicerátból vízkilépéssel képződik a foszfoenolpiruvát. Az ADP piruvátképződés közben regenerálódik. Az acetil-CoA képződését ferredoxin segíti. — A rend első képviselőjét J. A. Brierley egyetemi hallgatóként izolálta a Yellowstone park savanyú hőforrásából 1966-ban Ph.D. munkája keretében. Nevét az egyik savtűrő kénhasznosító őrsi (*Acidianus brierleyi*). Ezt követően hasonló törzseket izoláltak Olaszország, Japán, Új-Zéland és Izland kénves hőforrásaiból. Ezek az eredmények irányították a mikrobiológusok figyelmét a ma ősbaktériumoknak nevezett csoport létezésére. Ezt megelőzően elképzelhetetlennek tűnt az élet a víz forrásponjtja körül.

A savanyú tenyészkörülmények között szaporodó hipertermofil baktériumok kutatása az utóbbi évtizedben az eredmények gyakorlati jelentősége miatt fokozódott. A hőtüró enzimek a modern ipari technológiai módszerek kidolgozásához nélkülözhetetlenek. A bennük működő ferredoxin (Fe/S) oxidoreduktázok 90-100 °C-on is stabilak.

A **Sulfolobaceae** család tagjai zömmel fakultatív kemolito-autotrófok.

A *Sulfolobus* genus fajai a kénhidrogént kénné, a ként pedig szulfáttá oxidálják. Az idesorolt fajok neve előfordulásuk helyére utal: *S. acidocaldarius*, *S. solfataricus* (kaldera, szolfatára). A *Sulfolobus acidocaldarius*-ból származó savanyú proteáz számára az optimális környezet 90 °C, pH= 2.

Az *Acidianus* nemzetség fajai ezen túlmenően anaerob körülmények között, hidrogén jelenlétében a ként kénhidrogénné redukálják, azaz hidrogén-kén autotrófok. Erre a nevükben fellelhető római kétarcú (Janus) isten emlékeztet. Az obligát kemolitotróf *A. infernus* faj elnevezése a solfatara kráter pokolbeli (inferno) mélységére, Hades birodalmára utal. Az idesorolt *A. brierleyi* törzset kemoheterotróf tulajdonsága elkülöníti az előző fajtól.

A *Pyrococcus furiosus* szerinproteáza (pyrolyzin) 100-115 °C-on, 7-7,5 pH-nál;

A *Pyrococcus woesei* proteináza pedig 110 °C -on, 8-9 pH-nál működik eredményesen.

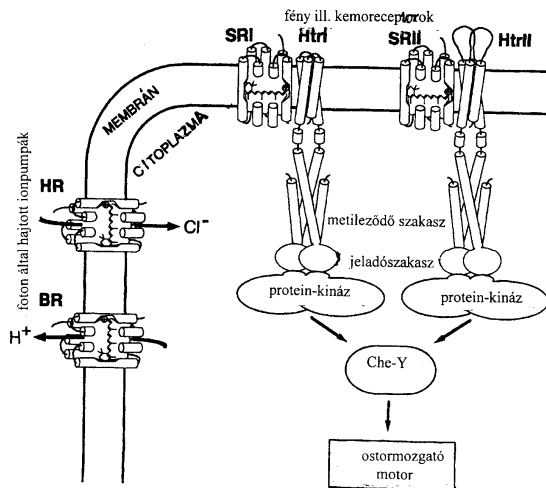
A *Thermotoga maritima*-ban képződő glükóz-fruktóz izomeráz számára 105 °C jelenti az optimális hőmérsékletet.

## FOKOZOTTAN SÓTŰRŐK — HALOBACTERIACEAE

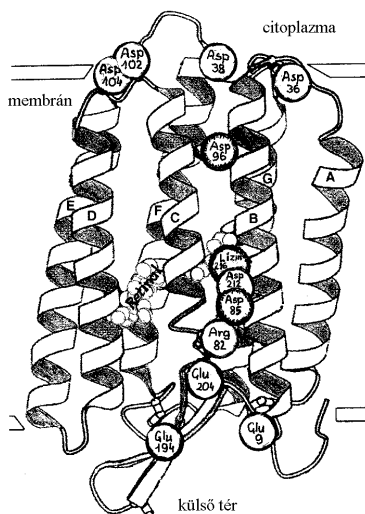
Magas sótartalmú tavakban, sós mocsarakban élnek, de sózott ételekből is izolálhatók. Erősen sótürrökként tömény (4 M-os) nátrium-klorid-oldatban növekednek leggyorsabban, de 15 % sókoncentráció alatt és 25 % sókoncentráció felett nem képesek osztozni. Fejlődésükhöz minimálisan 0,1 M magnézium-ion jelenléte szükséges. Sózott halakon, sózott húson vörös elszíneződést okoznak. A Holt-tengerben és a Nagy-Sóstavak partján is előfordulnak

A sótürrőkből izolált enzimek csak magas sókoncentráció jelenlétében stabilak és csak ilyen körülmények között használhatók a kívánt reakciók véghezvitelére. A belőlük izolált riboszómák is nagy sókoncentráció jelenlétében képesek működni. Tíz százalék sótartalom alatt a pálcika alakú, mozgékony sejtek mozgásképtelenné válnak, majd legömbölyödve végül feloldódnak. Valójában a sejten belül nem a nátrium-koncentráció a magas, hanem a K-ion tartalom jelentős. A külső magas Na-koncentráció a belső ionszint fenntartásához szükséges.

Viszonylag lassú növekedésűek, peptont tartalmazó sós táptalajon 6-7 nap generációs idővel szaporodnak. Különleges sejtburkuk csak fehérjét és lipidet tartalmaz. A citoplazmamembránjuk poliizoprenoid alkoholok glicerinnel képzett étereiből épülnek fel. Aerob, illetve fakultatív anaerob fajokra jellemző vörös színük a nagyméretű (C-50) karotenoid- és bakterioruberin-tartalmuk következménye. A hidrogénion-transzportot retinál tartalmú pigment, a fényenergiát hasznosító bakteriorodopszin segíti. A *Halobacterium* fajok Gram-negatív festődésű, mozgékony, különböző méretű pálcikák, amelyek az öreg tenyészetben kokkoid formában jelennek meg. Ammóniumsókat, 3,5-5 M konyhasót és 5-50 mM magnéziumionot tartalmazó tápközegben 5-8 pH tartományban jól növekednek. A tápközegbe juttatott aminosavak a növekedést jelentősen fokozzák. Sómentes vízben a baktériumsejtek feloldódnak. Membránjukban különleges glikozil-diéterek kénsav-származékát találjuk.



A fototaxis működési vázlatja az ősbaktériumokban



### Bíbor-vörös bakteriorodopszin

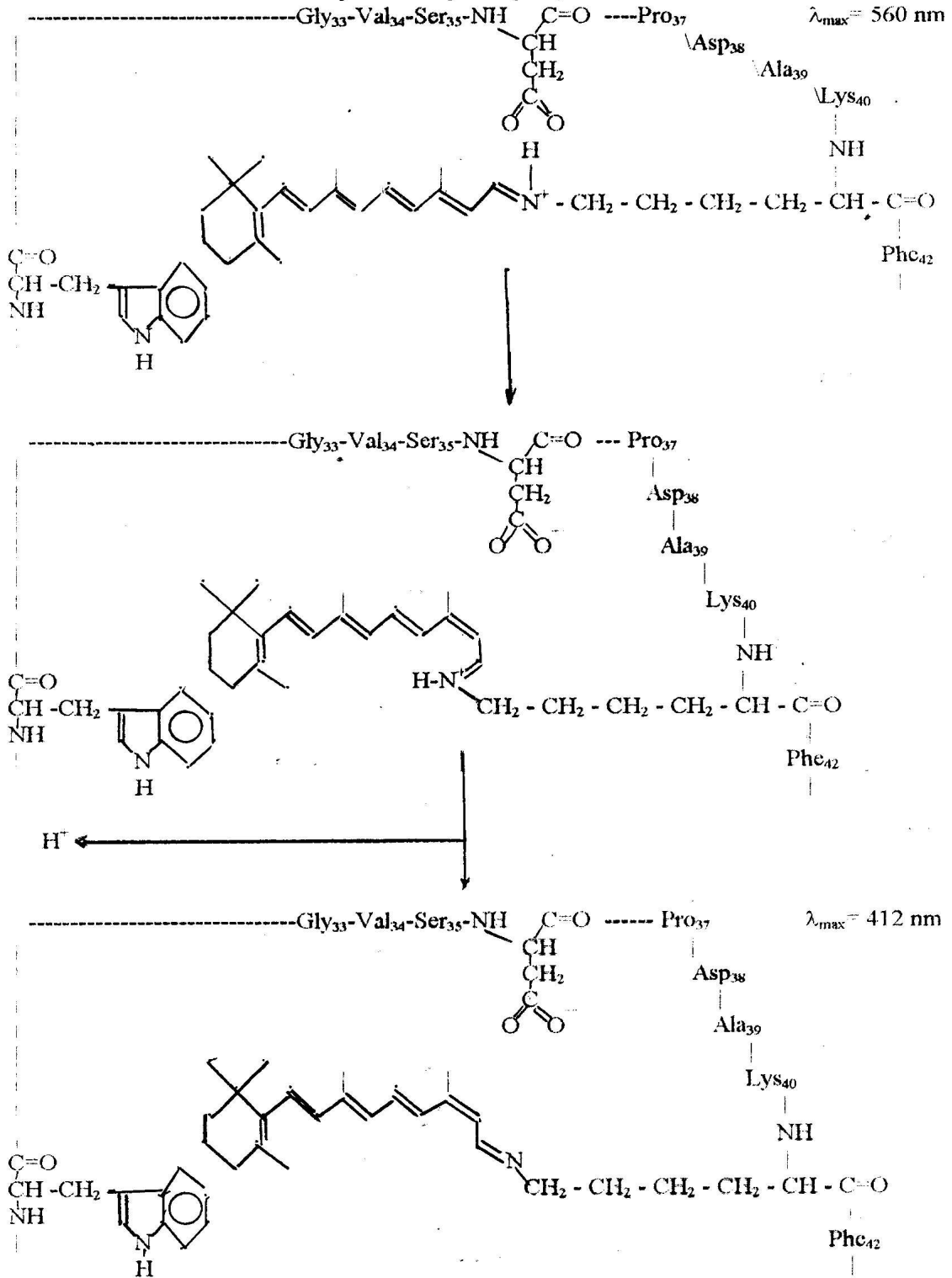
570 nm hullámhosszú zöld fény hatására a retinál izomerizálódik. A kialakuló cisz forma következtében a Schiff-bázis a membrán külső felülete felé mozdulva megszünteti a gyenge sókötést, elősegíti a proton külső térbe lökődését. Az aszparaginsav negatív töltésűvé alakuló karboxilcsoportja újra feltöltődik a citoplazma protonállományából, a retinál

A *Halobacterium salinarium* (régebben *H. halobium*) részletes vizsgálata mutatott rá először a fototaxis metilezési reakcióval összekapcsolt voltára. A citoplazma membránban négyféle rhodopszin fehérjekomplex működik. Kettő ionpumpaként teljesíti feladatát. A fényenergiával az egyik a protongradiens, a másik a klorid gradiens kialakításán munkálkodva végeredményben az ATP szintézist és az anyagcsere működését biztosítja. A két másik retinált tartalmazó pigment mint fotoreceptor és kemoreceptor a baktériumot az optimális fényviszonyok irányába tereli. A jelzés hatására a komplex metilezettsége megváltozva a his-kinázt aktiválva elősegíti a regulátor fehérje (CheA) foszforileződését, amely végül is foszforilezve a Che-Y fehérjét befolyásolva az ostor működését és a baktériumot a célpontban tartja, illetve a cél felé irányítva mozgásba hozza. A mozgás irányát az inger gyakorisága + illetve - irányban befolyásolhatja aszerint, hogy a receptor milyen gyakorisággal fog kedvező, vagy kedvezőtlen jelzést (az egységnyi időn belül jelenlevő fotonok, illetve ingerek száma alapján) kapni. A mechanizmus jól összehasonlítható a *Caulobacter crescentus*-nál tapasztaltakkal.

Az aerob növekedő tenyészet levegőztetését megszüntetve a sejtöreg gyarodása a sejtek osztódása megszűnik. Az oxigénhiány hatására az addig is karotinban gazdag membránon jól észlelhető bíborvörös foltok képződnek, amelyek az idő előrehaladtával, néhány nap alatt a felület felére is kiterjedhetnek. Feltehetőleg a proton eltávolítását végzik a nyugvó sejtől. A levegőzés újraindításával ezek a bíbor foltok lassan eltűnnek, a sejtek osztódása pedig folytatódik. — A halobaktériumok (*Halobacterium salinarium* syn, *halobium*) membránjában protonpumpaként működő bakteriorodopszin, a fényenergiát protonmozgató erővé alakítva segíti elő a protonok eltávolítását a sejtől. Ez a bíborvörös színű fehérje (260 kDa) proszretikus csoportként retinált, azaz A-vitamin-aldehidet tartalmaz. A retinálcsoport a membrán külső felületétől 0,15 nm távolságra helyezkedik el a membránba rögzített fehérje hidrofób üregében. A transz szerkezetű retinál-aldehid protonált Schiff-bázist (imin-kötés) alkot a fehérje mozgékony szakaszán található 41-es lizin szabad ε-amino-csoportjával. A térszomszédban levő aszparaginsav karboxil-csoportjához kötődő proton gyenge ionos kötéssel kapcsolódik a fenti Schiff-bázishoz. 570

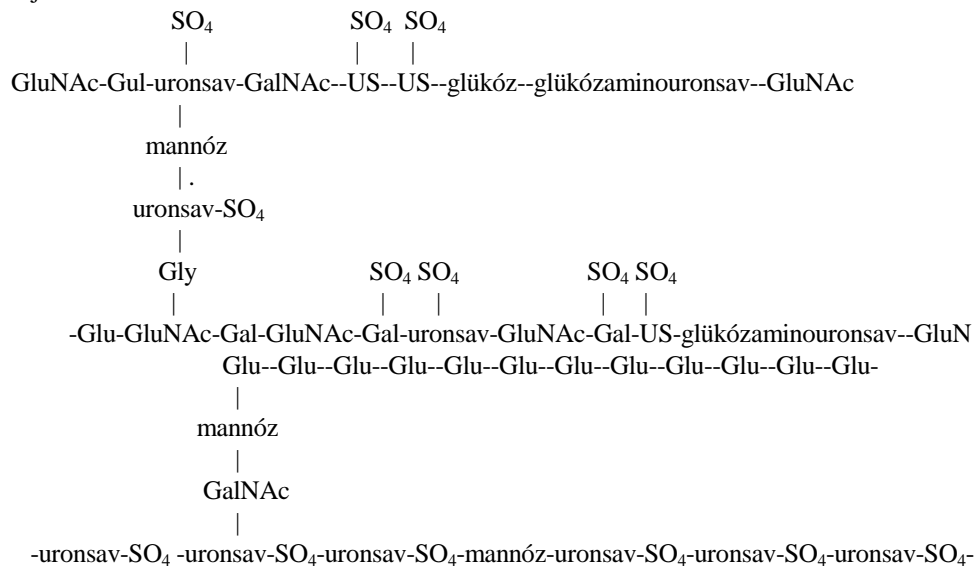
pedig izomerizálódva újra felveszi a kiindulási állapot tiszta transz szerkezetét, várva a következő foton megjelenését. — A fény hatására kialakuló protongradiens az ATP-képződés lehetőségét teremti meg oxigén mentes körülmények között. (Megjegyzendő, hogy a retinál képződéséhez minimális légköri oxigén jelenléte szükséges!) A redox-ciklus állandó megvilágítás esetén akár 200-szor ismétlődhet másodpercenként.

Retinált tartalmazó bakteriorhodopszin mint protonpumpa működik

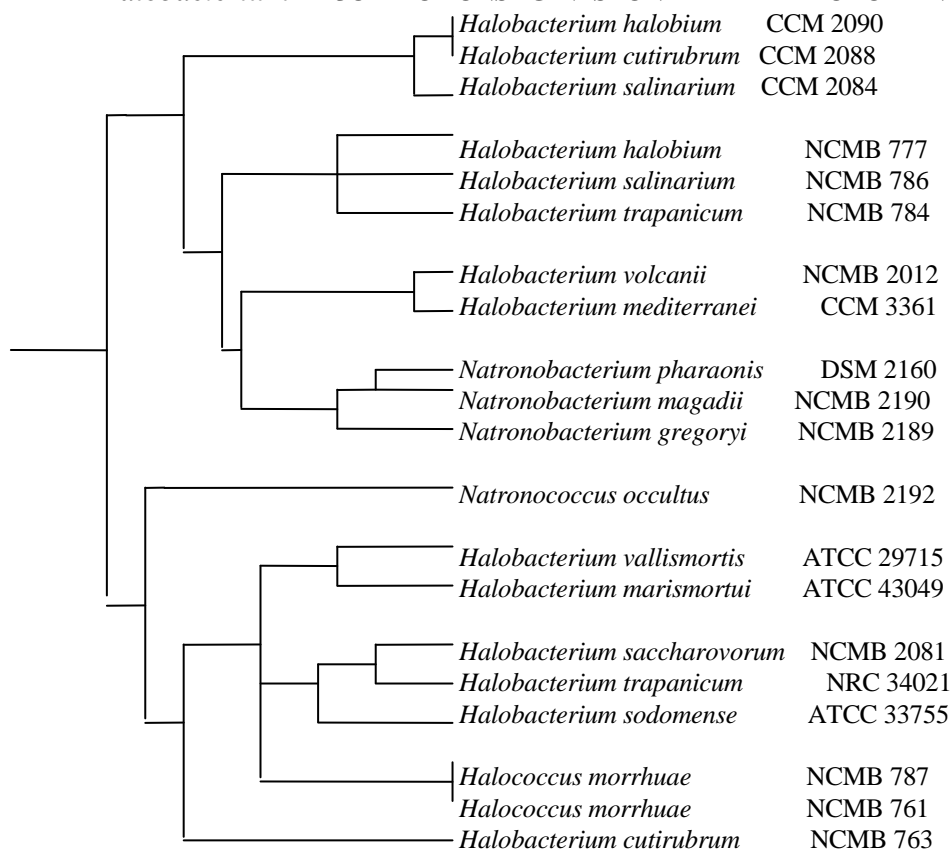


folyamatos zöldes fény hatására a ciklus másodpercenként akár 200-szor ismétlődhet!

A fokozottan sótűrő baktériumok sejtfa a heteropoliszacharidok szulfátszármazékain kívül uronsavat, aminocukrokat tartalmaz. A glükánfonalak uronsavait és az aminocukor elemeket glicin köti össze. A sótűrők sejtfa jelentős mértékben eltér az eubaktériumokra jellemző murein felépítésétől, de különbözik a pszeudomurein sejtfa szerkezetétől is.



### **Halobacterium** FAJOK ROKONSÁGI VISZONYAIT ÁBRÁZOLÓ DENDROGRAM

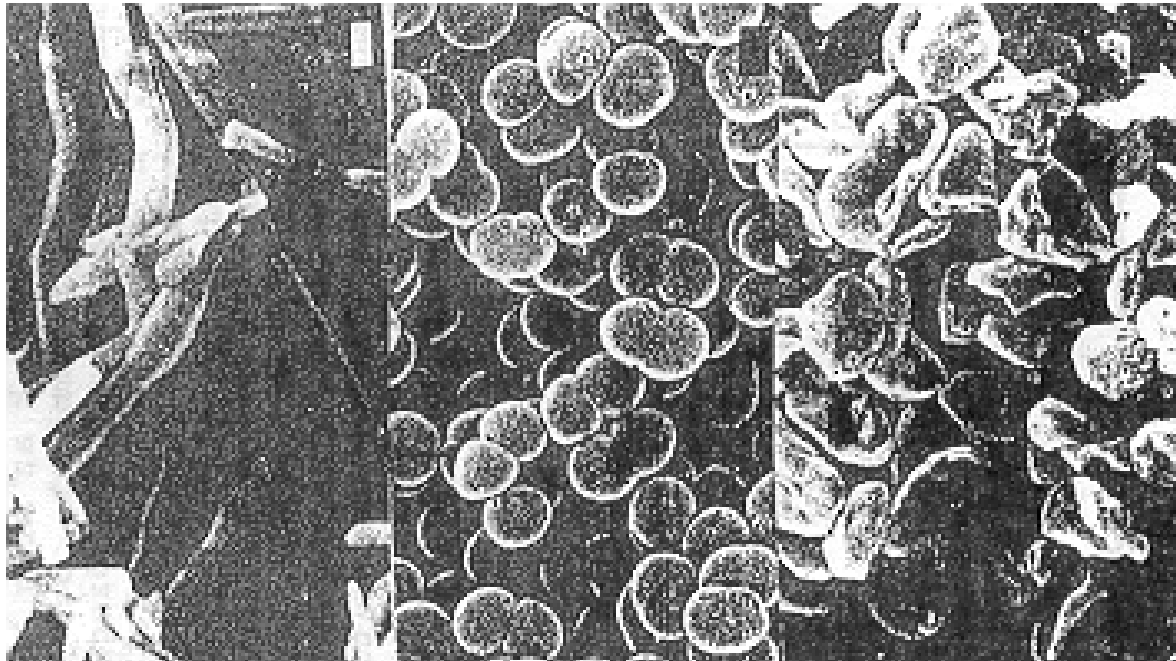


A *Halobacterium halobium* részletes vizsgálatakor a faj feltűnő variabilitását figyelték meg. A spontán megjelenő mutánsaik nagy gyakorisággal alakulnak vissza. A vizsgálatok szerint a halobium genom legalább 500 ismétlődő elemet tartalmaz. Plazmidok jelenlétét igazolták és fájjaikat (H-fág) is felfedezték.

A *Haloarcula* genus mozgékony és mozgásképtelen fajai a *Halobacterium* fajoktól polimorf megjelenési formáik alapján különböztethetők meg. A *Haloferax* fajok az előbbiektől fokozott magnéziumigényük (20-50 μM) alapján

különíthetők el. Tartalék tápanyagként poli- $\beta$ -hidroxivajsavat halmoznak fel. Nátriumion-tűrők, 4,5 M koncentráció mellett is növekednek. A sókoncentráció csökkenését 0,5 M-ig elviselik magnézium jelenlétében.

A sótűrő *Halococcus* fajok heteropoliszacharid sejtfalában a galaktóz C-2 szulfátésztere, a galaktózamin C-3 és a galakturonsav C-3 szulfátésztere fordul elő változó mennyiségben. A *Halococcus* fajok mozdulatlan sejtjei egyedül, párosan vagy csoportokban fordulnak elő. Az öreg sejtjeik Gram-pozitív festődésűek és jellemző módon desztillált vízben sem oldódnak fel.



*Halobacterium salinarium*

*Halococcus morrhuae*

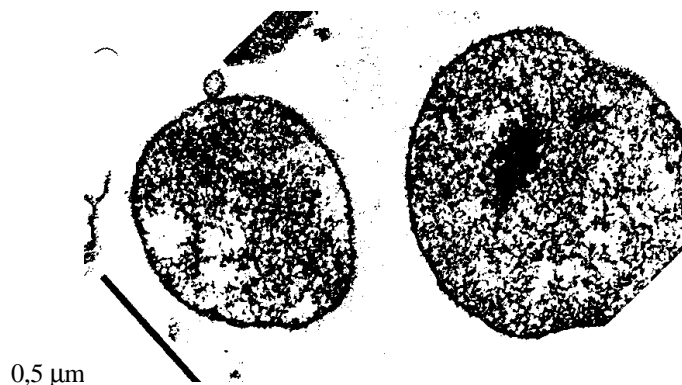
*Haloferax volcanii*

A *Natronobacterium* fajok Gram-negatívan festődnek. Lúgos körülmények között (9-11 pH) 5,2 M nátrium-klorid (telített oldat!) jelenlétében is szaporodnak. Afrika nagy sós tavaiban élnek. Fajaik elnevezése is előfordulási helyükre utal: *N. magadii*, *N. pharaonis*, *N. gregoryi*. Bakteriorodopszin helyett bakterioruberint tartalmaznak. Desztillált vízben feloldódnak. Membránjuk nem tartalmaz glikolipidet. Ezzel szemben a *Natronococcus* fajok Gram-pozitív festődésűek és desztillált vízben sem oldódnak fel. 11 pH-nál jól növekednek. Oxigén hiányában a nitrát redukciójára képesek. Ezek a fokozottan sótűrők élesztő kivonatot, kazamint tartalmazó (10-es pH) sós táptalajon 1-2 hét alatt kitenyészthetők, izolálhatók.

1 liter táptalaj összetétele: 250 g konyhasó,	50 g nátrium-karbonát,
3 g trinátrium-citrát,	2 g kálium-klorid,
1 g magnézium-szulfát,	10 g élesztőkivonat,
7,5 g kazamin	20 g agar

## SEJTFAL NÉLKÜLI ŐSBAKTÉRIUMOK

A típus törzsnek tekintett *Thermoplasma acidophilum* (ATCC 25905) első példányát Darland és munkatársai 1970-ben izolálták. Evolúciós szempontból talán az első őslények ma is élő kései leszármazottjait tisztelhetjük bennük; élő kövületek. Valódi sejtfaluk nincs. A sejteik beltartalmát egy ellenálló, 5-10 nm vastag 20 és 40 szénatomból felépülő biftanil-étereket, glikoproteint és lipopoliszacharidot (mannóz<sub>24</sub>-glükóz-glicerín diéter) tartalmazó membrán határolja el a külső környezettől. Ostoros mozgásra képesek. Gram-negatív festődésű fakultatív aerobok. A DNS-láncaikat hisztionszerű bázikus fehérjék veszik körül. Kromoszómaméretük a prokarioták között a legkisebb (<10<sup>9</sup> Da).



**Thermoplasma acidophilum**

Működőképes légzési láncuk csekély mennyiségű oxigén hasznosítására is képes; sőt enyhe levegőztetés hatására gyorsabban szaporodnak, erősen levegőztetett körülmények között viszont növekedésük leáll. Jól növekednek, ha a légkör legalább 1 %-nyi széndioxidot tartalmaz. Kén hasznosítására (redukciójára) nem képesek. Obligát termoacidofilek; 55 °C-on, erősen savanyú (1-2 pH) tápközegben növekednek. Semleges kémhatású közegben annak ellenére feloldódnak, hogy sejteik beltartalma semleges kémhatású. A tápközeghez adott élesztő kivonat — az ősléves életkörülményeire emlékeztetve — növekedésüket fokozza. Többek között szénbányák meddőhányóiból is könnyen izolálhatók ilyen törzsek. Természetes élőhelyük talán a felszínhez közeli, átlevégőztött szénrétegekben sejthető. Az ostorral mozgó példányaiknak sejtburkoló membránja több mannóz egységet, több N-acetil-glükózamint és aszparagint tartalmaz, mint a nem mozgó alakok.

### MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI EREDMÉNYEK ÉS AZ ŐSBAKTÉRIUMOK

Az ősbaktériumok molekuláris biológiai technikák alkalmazásával végzendő biokémiai és genetikai vizsgálatától alapvető jelentőségű eredményekre számíthatunk a mikrobiális evolúció, a fehérje filogenetika és a bioenergetikai mechanizmus kialakulásának megértése szempontjából. Az ősbaktériumok energetikai viszonyait vizsgálva megállapítható, hogy nem csak a metanogenezis igényel az eubaktériumokétól különböző kofaktorokat és új energiakonzerváló rendszert, de az ősbaktériumok légzőrendszere is különböző. Sok eredmény ismeretében sem tisztázódott eléggé a heterodiszulfid redukáz által hajtott proton pumpának az eubaktériumokétól lényegesen eltérő működési mechanizmusa.

Hasonló módon a *Sulfolobus* szukcinátdehidrogenáz (SDH) ciszteingazdag alegységének a funkciója az elektron transzportban teljesen rejtélyes, de ez mondható az ősbaktériumok kén metabolizmusának primer energia átvivő mechanizmusáról is. — A másik példa az erősen glikozilált citokróm b szerepe, amelyik az *S acidocaldarius* citoplazmamembránjának a külső felületén helyezkedik el. A funkciója ugyan ismeretlen, de lehet hogy némi bepillantást enged a *Sulfolobales* nemzetség periplazmikus redox rendszerébe. A ferredoxinok bonyolult sokféle izoalakjainak az aktív részvétele az ősi redoxi kémiában reményt ad arra, hogy az elemek donor/acceptor specificitás szerinti metabolikus elrendeződését a közeljövőben megérthetjük.

Aktualizálva az ismereteket; tény, hogy az ősi genom kevesebb mint 40%-a azonosított "reading frame", ami azt jelenti, hogy a genomi vizsgálatok helyett koncentrálni kellene a fehérjebiokémiai kutatásokra. A nyitott kérdésekre feleletet csak akkor várhatunk, ha a sikerül fejleszteni az ősbaktériumok genetikai transzformációjának a módszereit. Régóta csak a *Halobacterium* és a *Haloferax* törzseknél volt sikeres a transzformáció. — A metanogéneknél a rendelkezésünkre álló genetikai eszközök csekély száma limitálja a kutató munka eredményességét. Nincs elérhető, gyakorlatilag alkalmazható módszer a *Sulfolobales* nemzetség tagjai esetében sem. Tovább lépést csak az hozhat, ha sikerül előállítani azt a bifunkcionális, extrém hőmérsékletet és ionerősséget elviselő vektort, amelyik *Escherichia coli*-ban és az ősbaktériumok közé sorolt gazdasejtnek választott törzsben is jól működik.

## KÖRNYEZETSZENNYEZŐ ANYAGOK BIOLÓGIAI HASZNOSÍTÁSA

Szerves anyagok anaerob lebontása évmilliárdok óta nélkülözhetetlen részfolyamata a Föld felszín anyagforgalmának. A tudomány ezzel az érdekes és még ma is sok nyitott kérdést tartalmazó problémakörrel a tavak fenekén felszaporodó üledék rothadási folyamatainak vizsgálatokor, a tözegmocsarak különleges biológiai jelenségeinek vagy a kérődzők bendőjében végbemenő átalakulásoknak a magyarázatokor találkozott. — A szeméttüdrökben, illetve trágyatürolökben folyó anaerob folyamatok alapjelenségei hosszú ideig senkit sem érdekeltek, annak ellenére, hogy ugyanakkor a jelenség gyakorlati hasznát közösen élvezte az emberiség. Amikor Franciaországban Louis H. Mouras de Vesoul 1860-ban zárt emésztügdüdröt épített a birtokán, valószínűleg csak a kellemetlen illatanyagok kiszabadulását akarta megakadályozni. Később az emésztügdüdrben végbemenő folyamatot figyelve megállapította, hogy a szilárd növényi hulladékok egy idő után teljesen elfolyósodnak. A képzüdü gáz (biogáz) hasznosítására azonban nem gondolt. Az irodalmi adatok szerint először 1895-ben Donald Cameron használta a kiáramló gázelegyet fütüanyagként. Az Exeter-ben épített, nagy emésztüdtartályai körül ezzel a gázzal világítottak.

A század első felében a szennyvíztisztítást energiaigényes aerob módszerrel próbálták megoldani. Az eljárás valójában a biológiailag eloxidálható szervesanyag-tartalom lebontásához szükséges levegü mennyiségének a meghatározására szolgáló analitikai módszer megnüveltü méretü változatának tekinthetü. A szennyvizet ugyanis a szervesanyag-tartalmának a biológiai lebontásához szükséges oxigén mennyiségével lehet minüsitüni. Az aerob bomlást elősegítü levegüztetés azonban nem kevés energiát igényelt. A levegüztetett szakasz után elhelyezett ülepitümedencék biológiai folyamatait nem vizsgálták. Ugrásszerű fejlődést hozott a hetvenes években jelentkezü energiakrízis, a nyersolaj árának emelkedése. a szakemberek figyelmét az energetikailag kedvezübb anaerob módszerekre irányította. Az aerob eljárással történu tisztításkor a szennyvíz eloxidálható széntartalmának 45 %-a széndioxid alakjában távozik; a bevitt anyag fele a szennyvíziszapban dúsul fel (ez késübb elégethetü); 5 % pedig az elfolyó tisztított vízben marad oldva. Anaerob módszerrel viszont ugyanebbü a szennyvízbü a metabolizálható széntartalom 80 %-a metán és széndioxid formájában gázfázisba vihetü, miközben a szennyvíziszapban 10 %, az elfolyó tisztított vízben ugyancsak 10 % széntartalom van jelen. Ez utübbi érték közel felére csökkenthetü, ha az anaerob rendszer után egy kisméretü aerob reaktort müküdtetünk.

Az anaerob reaktorbü távozü biogáz összetételét a szennyvíz kémiai összetétele jelentü mértékben befolyásolja: Szénhidrátbü 50 % metán és ugyanennyi széndioxid képzüdik. A fehérje tartalmü szennyvízbü képzüdü széndioxid és metán aránya 3:7, de jelentü az ammüniaképzüdes. Lipidekbü 67 % metántartalom mellett 33 % széndioxid képzüdik. Természetesen külnbüzü technológiai fogásokkal - hidrogén bevitellel vagy a széndioxid és az ammünia eltávolításával - a gázelegy (biogáz) metántartalma lényegesen növelhetü. A gazdasági haszon számottevü, hiszen a hexüz aerob lebontásakor 2803 kJ/mol energiát szolgáltat, anaerob körülmények között viszont mindüssze 132 kJ/mol szabadul fel. A külnbség jelentü hányadát a fütüanyagként használható metán tartalmazza.—A szeméttütelepeken folyó metánképzüdesürol Jones és Owen már 1934-ben beszámolt. Az energiabüség miatt azonban erre a felfedezésre senki sem figyelt fel. Csupán a 60-as években kezdtek német és amerikai mérnükök e felismerés gyakorlati hasznosításával foglalkozni. Az első gáztermelü üzem a Palos Verdes Landfüllnél 1975-ben indult. A szeméttüteleprü nyert gázt elektromos energia termelésére hasznosították. Ezt követüleg egyre több hasonló üzem épült szerte a világon. Egy 1988-ban megjelent statisztikai adat szerint addig 15 országban 146 üzem kezdte meg a müküdesét. Az így nyert gáz általában 55 % metánt tartalmazott. A termelt gáz mennyisége évenként 825.000 tonna szénnel egyenértékü fütü teljesítümenyt jelent. — A metánképzüdeset mint általános jelenséget a Föld külnbüzü pontjain végzett vizsgálatok igazolják. A mérhető csekély koncentráció ellenére a Föld évi metántermelése meghaladja a gigatonna mértéket. Ez a metánmennyiség külnbüzü mikroorganizmusok egymást segütü és kiegészütü tevékenységének eredményeként kerül a légkörbe.

A szerves anyagbü folyó biológiai metánképzüdes négy, biokémiaiilag jól megkülnbüzüthetü szakaszra osztható. Az egyes szakaszok mikroflórája számára az optimális fizikai-kémiai körülmények jelentü mértékben eltérnek..

Az első lépésben nagyméretü szerves molekulák, polimerek, fehérjék, poliszacharidok lebontása folyik. Ezt a feladatot külnbüzü mikroaerofil és fakultatív anaerob szervezetek extracelluláris enzimei hatásosan végzik.

A második lépésben nagyobb molekulák lebontása folyik, miközben C-1 töredékek, szerves savak, alkoholok, szén-dioxid és hidrogén képzüdik. Ezt a szakaszt a reakcióelegy savanyodása miatt acidogén fázisnak nevezik. Az itt müküdü gyors növekedésü mikrobák ezt a savanyodást jól türik.

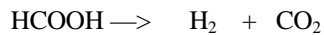
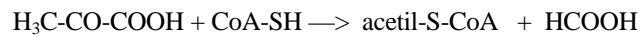
A harmadik lépésben a fenti vegyületekbü a szerves savak és alkoholok továbbalakulása közben föleg ecetsav képzüdik. Acetogén fázisnak nevezik ezt a szakaszt (Acetil-S-CoA), mert mikrobiális úton közvetlenül széndioxidbü és hidrogénbü ecetsav képzüdhét.

A befejezü szakasz a metánképzüdes, amely molekulánként legalább egy ATP képzüdesével jár. Ebben a fázisban az ecetsav, valamint a C-1 töredékek: metanol, formaldehid, formiát, metilamin szolgáltatják az alapanyagot

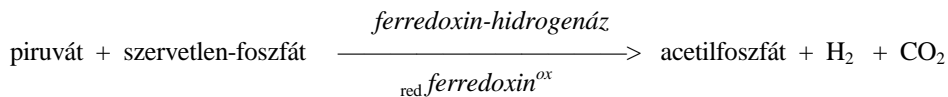
a metánképződéshez, de a jelenlevő szén-dioxid és hidrogén is metánná alakul. Innen származik a metanogén fázis elnevezés.

A négy szakasz természetes körülmények között térbelileg nem különül el, ezért a metánképződés sohasem éri el a célüzemekben, illetve laboratóriumokban megvalósítható teljesítményt. Itt ugyanis a négy szakaszt térben elkülönítve, két reaktorban folytatják le, ami az optimális reakciókörülmények biztosítását lehetővé teszi. Az ósbaktériumok és az eubaktériumok biokémiai és élettani különbségeit ismerve nem csodálkozhatunk azon, hogy az anaerob szennyvíztisztítás technológiájának kialakításakor a két szakasz térbeli szétválasztására törekedtek. Ezzel a lebontandó szerves anyag összetételétől többé-kevésbé függetlenné vált a metánképződés. A rendszert tovább fejlesztve a lassan szaporodó metanogének porózus üveggyűrűre rögzítésével olyan sejtömeget lehet a biogázt termelő reaktorban felhalmozni, amely a térfogategységre vonatkoztatott aktivitást a gazdaságosság szintjére emeli. A képződő metán a rendszer működtetéséhez szükséges energiaigényt bőven fedezi.

Az első reaktorban egymás tevékenységét segítő mikroaerofil, fakultatív anaerob és obligát anaerob baktériumok konzorciuma működik. Ezek széles pH tartományban képesek osztódni, mégpedig a baktériumokra jellemző 30 perces generációs idővel. Zömmel mezofilek, optimális hőmérsékletük 35 °C. A jelenlevő oxigéntűrő szervezetek rövid idő alatt felhasználják a kezdetben jelenlevő oxigén nyomait is. Az első reaktor konzorciuma a nagy molekulák (polimerek) hidrolízisét, szerves savak, alkoholok akár C-1 töredékekig való lebomlását, széndioxid és hidrogén képződését teszi lehetővé. Ezzel előkészítik a fermentációs körülményeket az acetogén és metanogén fázis számára. A hidrogén az anaerob, illetve fakultatív anaerob szervezetekben folyó fermentáció végtermékeként jelenik meg. Fontos szerepet kap a bélbaktériumokban működő hangyasav dehidrogenáz és a piruvát-formiát liáz

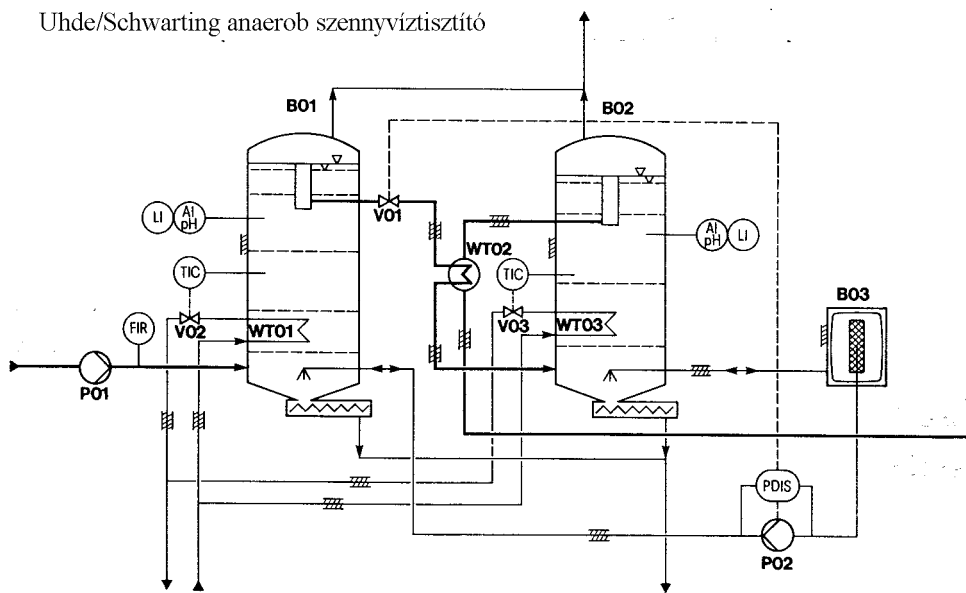


A *Clostridium*-okban a foszforoklasztikus reakciót segíti a ferredoxin hidrogenáz



A *Clostridium*on kívül hidrogént termelnek még többek között az *Eubacterium*, a *Peptococcus* és az *Aerobacter* fajok. Az itt tevékenykedő mikroorganizmusok gyorsan szaporodva hatásosan képesek alkalmazkodni a szubsztrátum minőségében bekövetkező változásokhoz. Ezt az alkalmazkodóképességet a technológiai paraméterek szabályozásával segíteni lehet. Nyilvánvaló, hogy a szennyvíz kémiai összetételének állandó volta nagy mértékben képes fokozni a rendszer működésének biztonságát és gazdaságosságát. Ezért ezeket a szennyező anyagra optimalizált technológia szerint működő reaktorokat közvetlenül a szennyvizet termelő üzem mellé telepítik, és ezzel a kommunális szennyvíztisztító berendezéseket tehermentesítik.

Uhde/Schwarting anaerob szennyvíztisztító

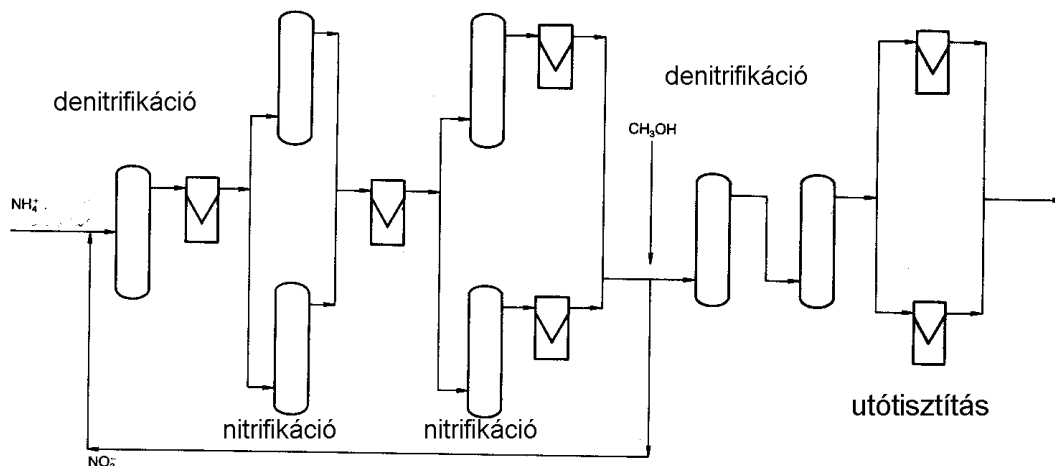


A vázlatrajzon követhetően az Uhde/Schwarting anaerob szennyvíztisztító eljárás egy fakultatív anaerob mikroorganizmusok hatásos savanyító tevékenységét biztosító BO1 jelű fermentorban bontja le a szennyvíz

szervesanyag-tartalmát. A fermentálé hőmérsékletét 35 °C-on tartja a beépített WTO1 hőcserélő, amelynek hatásfokát a TIC szabályzó ellenőrzése alatt működő VO2 szelep befolyásolja. Az optimális pH (4,5-5,5) beállítását az LI szabályzó végzi. A szennyvíz betáplálása a PO1 szivattyú feladata. A fermentálé a VO1 szelep állásától függő ütembe kerül át az obligát anaerob ősbaktériumokat foglalkoztató BO2 fermentorba, amelynek optimális hőmérsékletét (55 °C) a VO3 szelep által ellenőrzött WTO3 hőcserélő állítja.

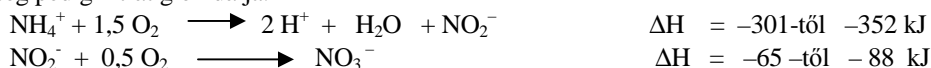
A második reaktorban az ősbaktériumok az előbbiből származó elegyet ecetsavvá, végül pedig metánná és széndioxidá alakítják. Az acetogén és a metanogén funkciót végző szigorúan anaerob, termofil baktériumok közössége különleges tulajdonságú, lassú növekedésű fajokból áll össze. A generációs idő harminc órától harminc napig változhat, amit az itt működő (Archaeobacteria) baktériumfajok biológiai tulajdonságai határoznak meg. Legismertebb rendszertani csoportként a *Methanobacteriales* rend említhető. A rendszer optimalizálásával és egy kisméretű aerob utóreaktor működtetésével, a tisztított szennyvíz az üzemben belül újra felhasználhatóvá válik. A tisztítás hatásfokának látványos bizonyítékeként Japánban aranyhalakat tenyésztene a tisztított szennyvízben. A két fermentor között szükség esetén a PO2 szivattyú teremt kapcsolatot, amely a perforált lemezzel szétválasztott BO3 fermentorból nyert sejtmentes lével képes hígítani a BO1 fermentor tartalmát. A BO2 fermentorban képződő tisztított szennyvíz a WTO2 hőcserélőn keresztül hagyja el a rendszert, amely a BO1-ből a BO2 fermentorba átfolyó fermentlevet előmelegíti. Mindkét fermentorból a komposztálásra kerülő leülepedő mikroorganizmusokat egy-egy csavarszivattyú távolítja el. A fermentorokban képződő biogáz metántartalma gázmotor működtetésével megtermeli a rendszer működtetéséhez szükséges elektromos energiát. Mindkét fermentorból a kiülepedő, komposztálandó mikroorganizmusokat egy-egy csavarszivattyú távolítja el.

A tápanyagokként hasznosuló nitrogéntartalmú vegyületek lebontása - a sejt anyagainak felépítéséhez szükséges szerves nitrogénigényen felül - jelentős ammóniaképződéssel jár. Ezért a biogázban a lebontandó szerves anyag összetételétől függően mindig találunk több-kevesebb ammóniát. Ammóniában dús szennyvíz tisztítása erre a célra kialakított nitrifikációt és denitrifikációt végző sorbakapcsolt egységek működtetését igényli.

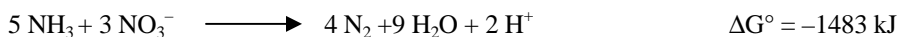


**Ammóniában gazdag szennyvíz denitrifikálását végző eljárás folyamatábrája**

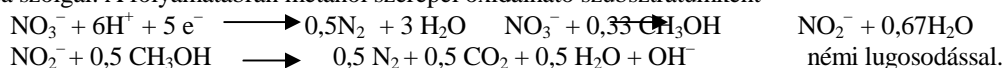
A nitrifikáció során aerob körülmények között a *Nitrosomonas* törzsek az ammóniát nitritig, a *Nitrobacter* nemzetség pedig nitritig oxidálja.



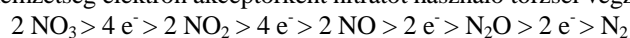
Anaerob körülmények között a két faj asszociátuma egymást segítve a nitrátlégzés terhére végzi az ammónia oxidációját



A denitrifikáció szigorúan anaerob körülményeket igényel. Elektronforrásként a szennyvíz dehidrogénezhető szénforrása szolgál. A folyamatábrán metanol szerepel oxidálható szubsztrátumként

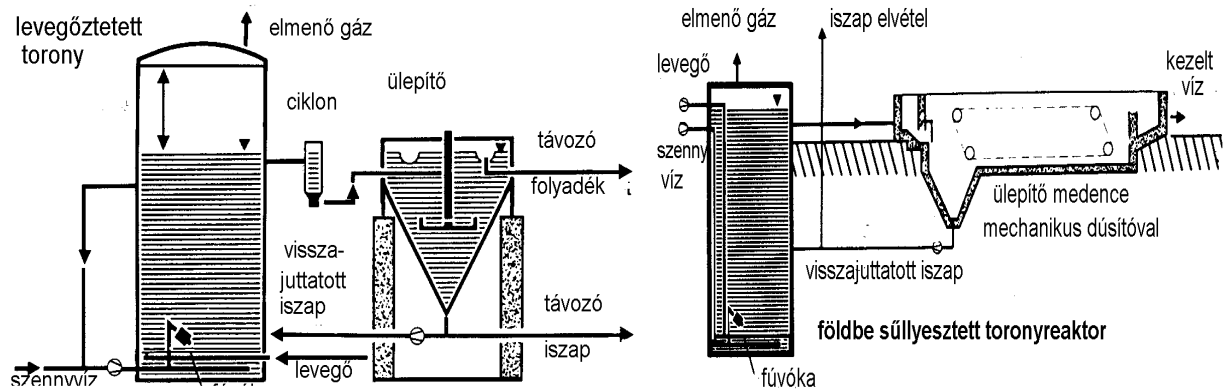


A denitrifikáló egységben *Thiobacillus denitrificans*, *Micrococcus denitrificans*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Achromobacter* nemzetség elektron akceptoraként nitrátot használó törzsei végzik.



Az anaerob folyamat közben jelentős energia szabadul fel, amely a műveletet végző szervezetek számára a szénforrás gazdaságos hasznosítását jelenti. — A nitrifikáló egységekben a levegőztetés hatékonyságát toronyreaktorok kifejlesztésével és megfelelő levegőztető fúvókák alkalmazásával lehet fokozni. A levegőztetett reaktor általában 15-20 méteres toronyként magasodik a felszín fölé, de gyakran süllyeszti a felszín alá. A ilyen berendezésben a finom eloszlásban bejuttatott levegő oxigéntartalmának 70-80 %-a a légbuborék úthosszával

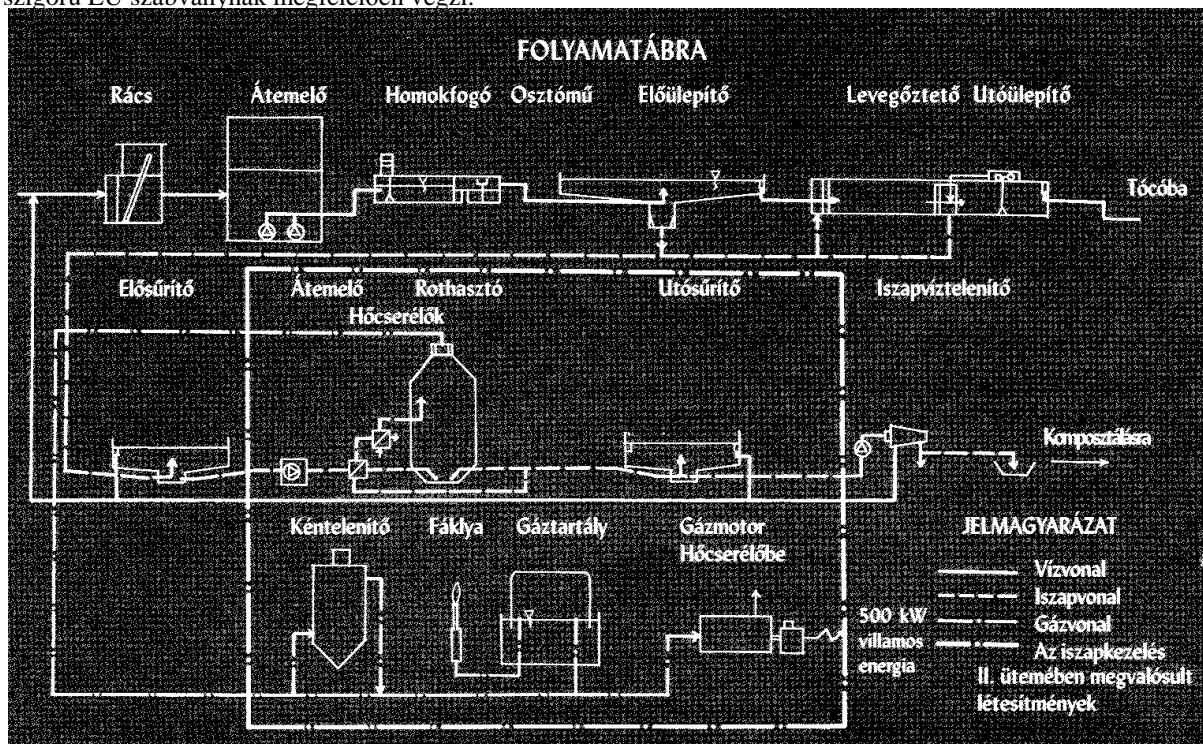
arányosan felhasználásra kerül. A levegőztetett reaktor után elhelyezett üleptőből távozik a kezelt szennyvíz. A kiülepedett aktív biomassa egy része a levegőztetett reaktorba visszatáplálva növeli annak a teljesítményét. Az üleptő határfokát mechanikai úton (végtelenített szalaggal) lehet javítani.



A tápközeg kéntartalma is redukált formában van jelen a reakcióterben. A sejtömeg kifejlődéséhez szükséges mennyiségben felül a kénhidrogén egyrészt a gázfázisban a biogáztelepek jól ismert illataként jelentkezik, másrészt a jelenlévő fémekkel reagálva fémszulfidok alakjában kicsapódik, ami a szennyvíziszap (zagy) fekete színét okozza. A kénhidrogén toxikus hatása zavarhatja a rendszer működését, amit mésztej adagolásával lehet kivédeni.

Megoldandó kérdés még, mi történik a feleslegben képződő sejtömeeggel? Az első reaktor eubaktérium sejtjei - inaktiválás után - állattápszereként jól hasznosíthatók. A második reaktor baktériumtömege azonban zömmel az ósbaktériumok csoportját képviseli. A bennük nagy mennyiségben előforduló fitanil-éter származékok miatt inkább talajerő pótlóként célszerű hasznosítani. Ez a vegyületcsoport ugyanis a talaj mikrobaközössége számára jól használható, a magasabb rendűek viszont szerény enzimmérszletükkel nem képesek hasznosítani.

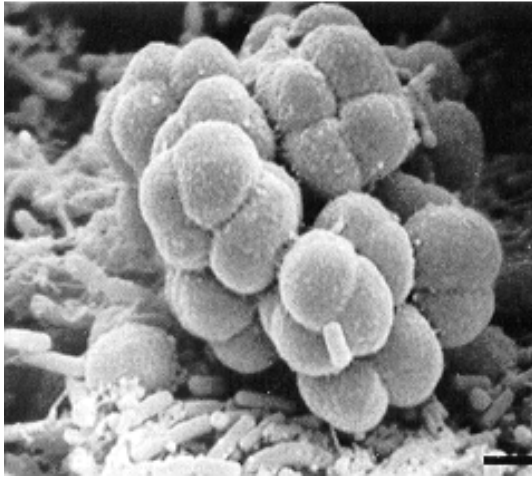
A városi(kommunális) szennyvíz korszerű tisztítására példaként szerepeltethető a FARE segélyből Debrecenben épített tisztítómű, amely a város teljes szennyvíz mennyiségének (50000 m<sup>3</sup>/nap) tisztítását a szigorú EU szabványnak megfelelően végzi.



A kialakított rendszer a levegőztetett aerob és fakultatív anaerob tisztítási műveletet, valamint a metanogéneket foglalkoztató szigorúan anaerob reaktorok tevékenységét egységes rendszerben önfenntartó módon működteti. A szennyvíztisztító mikroflórája és faunája változatos. Az ósbaktériumok és az eubaktériumok mellett egysejtűek, gombák és algák konzorciumának tekinthetők. Az aerob körülmények között szaporodó szervezetek nagyobb hányada elpusztulva az anaerob szakasz tápanyagforrásaként hasznosul. A képződött metán gázmotorokkal működő áramfejlesztői a centrifugák, a légkompresszorok, a rendszert mozgató átemelő szivattyúk, és szárító

berendezések energia igényét bőven fedezi. A vázlatrajzon látható, hogy az anaerob fázis után a tisztított szennyvízzel a városból bejutó szennyet optimális értékre hígítják. A tisztított lé csak a levegőztető medence után található utóülepítőn keresztül hagyhatja el a telepet.

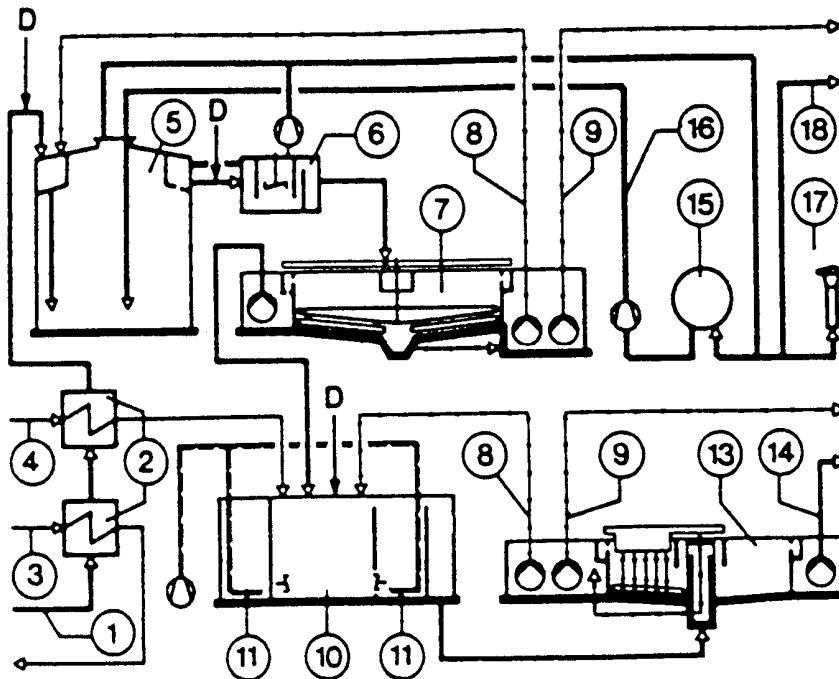
A biogázt termelő reaktor térfogatra számított teljesítménye jelentősen növelhető, ha a mikroszervezetek konzorciuma porózus üvegágyra (Siran; Schott, Mainz) telepedve fejtik ki metanogén aktivitásukat. A térfogategységben levő aktív baktérium tömeg mennyisége egy nagyságrenddel növelhető. A tisztítóműben képződő mikroorganizmusok az anaerob szakasz után elhelyezett iszapvíztelenítő berendezésen keresztül kerülnek komposztálásra.



Porozus Siran üvegfelületen fejlődő *Methanobacterium* és *Methanosarcina* tenyészet (1µm)

Gyakorlati példaként vizsgáljuk meg a Lehrter Zucker AG (D-3160 Lehrte) szennyvíztisztító rendszerének a működési adatait. Ez az üzem naponta 2000 m<sup>3</sup> szennyvizet termel amely átlagban 7000 mg/l (BOI) biológiailag oxidálható szerves anyagot tartalmaz. A nagy szervesanyagtartalmú szennyvizet (1) két hőcserélőn (2) átvezetve a metántermelő szakasz optimális hőmérsékletére melegítik fel részben az üzemből származó ipari vízzel (3), illetve a bepárlóból származó (4) kondenzátummal. A vasbetonból készült 3 kamrás összesen több mint 5000 m<sup>3</sup> hasznos térfogatú anaerob reaktor (5) némi denitrifikáció mellett naponta 7500 m<sup>3</sup> gázt termel (80% metán tartalommal), miközben az oxidálható szerves-anyag tartalom 1500 BOI-értékre csökken. A nitrifikációt is végző aerob szakasz (11) céljára szolgáló, 3500 m<sup>3</sup> térfogatú, levegőztetett reaktorban 1000 m<sup>3</sup>/óra levegő átfűvésével a tisztított szennyvíz oxidálható szervesanyag tartalmát 80-100 BOI-egységre csökkentik. Az

aerob szakasz után egy végső denitrifikáló térben (10) találkozik az anaerob köztesülepítőből származó előtisztított szennyvíz és az utóülepítőből származó (8) eleveniszap, valamint a nyerscukor sűrítőből származó, a hőcserélőn



Folyamatábra a répacukorgyárból származó denitrifikálandó szennyvíz tisztítására

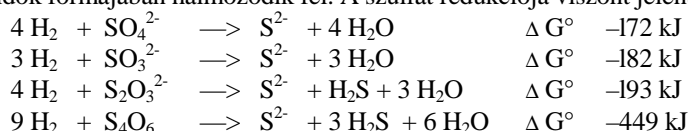
biztonsági fáklya (17) zárja. A tisztított szennyvíz, mely a kiindulási szerves anyag tartalom alig két százalékát tartalmazza az utóülepítőből kerül (14) a környezetbe. (D betű jelzi a rendszer azon szakaszait ahol denitrifikációt igénylő szennyezés még előfordul.)

átvezetett meleg kondenzátum (4). A metán fermentáló reaktorban a biomassa leülepedését a gáztartályból visszavezetett biogázzal (16) akadályozzák meg. A metánreaktorból egy köztes gázmentesítő kamrán (6) átvezetve kerül a részben tisztított szennyvíz a köztes ülepítőbe (7). Az itt felgyűlő eleven iszap nagy része (8) visszakerül a metántermelő (5) reaktorba. A fölösleg (9) szárításra kerül. Az anaerob fázisban képződő biogáz egy részét a gáztartály (15) gyűjti, a nagyobbik hányada (18) teljes mértékben fedezi az utótisztítóban (850m<sup>3</sup> 13) felhalmozódó, illetve a köztes ülepítőből származó szervezetek (9) szárításához szükséges energiát. A biogáz rendszert az elmaradhatatlan

## A KÉN BIOGEOKÉMIAI KÖRFOLYAMATA

Az élővilág esszenciális alkotó elemeként számon tartott kén, atomszerkezetéből következően fontos élettani szerepet tölt be. A kén külső elektronhéján az oxigénhez hasonlóan 6 elektron található, atomátmérfője miatt azonban az elektronegativitása jelentősen kisebb (oxigén = 3,5, kén = 2,5). Élettani szempontból a kén két létfontosságú aminosavnak, a ciszteinnak és a metioninnak az építőeleme. A cisztein a fehérjék térbeli szerkezetét rögzítő diszulfid kötések kialakulására ad lehetőséget, a metionin pedig a bioszintetikus folyamatok metilezési reakcióiban játszik pótolhatatlan szerepet. Metionin nélkül a fehérjék szintézise sem indul meg.

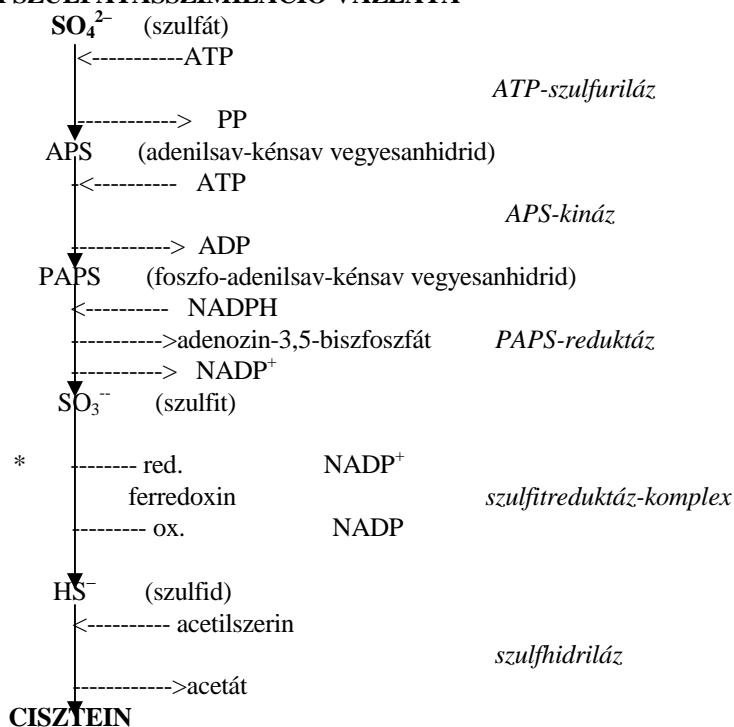
A kén a bioszféra számára hasznosítható elemi formában, a tengeralatti hőforrások környékén kiválva, a földfelszínen pedig kénigőzőlgésként jelenik meg. A geokémiai folyamatokban képződő redukált kén az ásványokban fémszulfidok formájában lelhető fel. A természetes vizekben szulfátként fordul elő jelentős mennyiségben. Mindkét előfordulását a mikrovilág erre szakosodott fajai elsősorban elektronakceptorként hasznosítják. A kén szulfáttá és kénhidrogénné diszproporcionálódása energetikailag ( $\Delta G = +48 \text{ kJ}$ ) nem előnyös, mégis redukálható fémek jelenlétében (például  $\text{MnO}_2 + \text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{S}^0 + \text{Mn}^{++} + 2 \text{OH}^-$   $\Delta G = -92 \text{ kJ}$ ) a folyamat végbemegy:  $3 \text{S}^0 + 4\text{H}_2\text{O} + \text{MnO}_2 \rightleftharpoons 2 \text{H}_2\text{S} + \text{SO}_4^{2-} + 2 \text{H}^+ + \text{Mn}^{++} + 2 \text{OH}^-$   $\Delta G = -44 \text{ kJ}$  Mindkét kiindulási anyagból, — az elemi kénből, illetve a szulfátból — redukcióval állítják elő a mikrobák az életműködésükhöz szükséges kénhidrogént, amely azután a cisztein, illetve metionin alkotóelemeként látja el élettani feladatát. A szulfátlégzés eredményeként képződő nagy mennyiségű redukált kén a környezetben kénhidrogénné vagy fémszulfidok formájában halmozódik fel. A szulfát redukciója viszont jelentős szabadenergia változással jár.



A föld elemi kénkészletének fele biogén eredetű. Anaerob fotoszintetizálók a kénhidrogénből elemi ként termelnek, aerob körülmények között a *Thiobacillus*-ok kénsavvá oxidálják. A szulfátredukálók kénhidrogént termelő aktivitását jelzi a nyersolaj ásványi eredetű szulfidtartalmának növekedése. Egyes szulfátredukálók maguk is képesek a szénhidrogének hasznosítására, de általában az olaj-viz emulzióban szénhidrogént bontó mikroszervezetekkel együtt élve hasznosítják azok anyagcsere termékeit. A szulfátredukálók és a metanogének vetélkednek a közegben elektron forrásként megjelelnő hidrogénért. A biokorrózió talán a bakteriális hidrogenázok elektron elvonó hatásának eredménye. A fém felületéről az ionok oldatba mennek.

### A kénanyagcsere egyes reakciófolyamatait funkciójuknak megfelelően nevezhetjük meg.

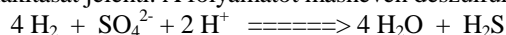
#### A SZULFÁTASSZIMILÁCIÓ VÁZLATA



\* A feltüntetett szulfit-szulfid átalakítás biokémiai útja feltételezhetően valamilyen templáthoz kötött, labilis közti-termékek ( $\text{S}_2\text{O}_5$ ,  $\text{S}_2\text{O}_4$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3$ ) reverzibilis változásain keresztül vezet. Az *Escherichia coli*-ban 750 kDa tömegű metalloflavoprotein (4 FAD, 4 FMN, 12 Fe) komplex közvetíti a szulfitredukcióhoz szükséges elektronokat.

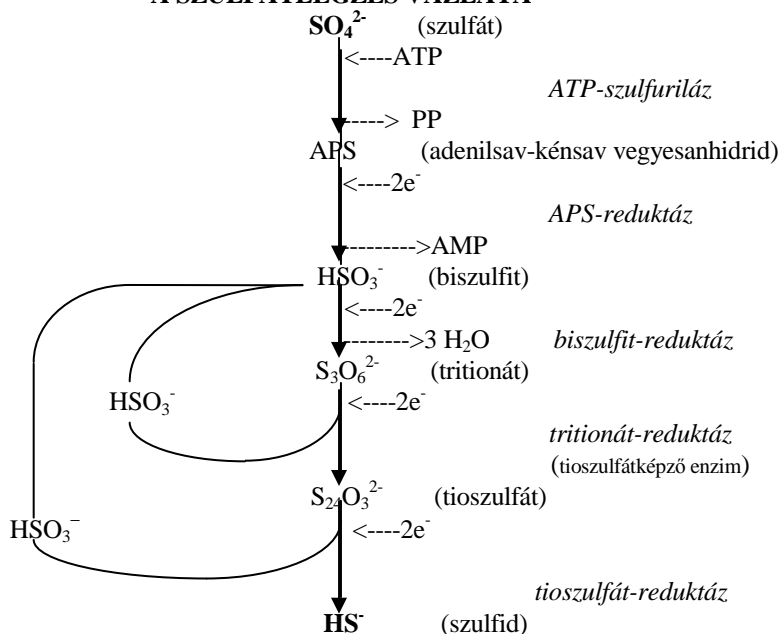
A **SZULFÁTASSZIMILÁCIÓ**, - amely a felhasznált elektronok száma ( $8 e^-$ ) és a reakció terméke ( $HS^-$ ) szempontjából a disszimilációtól nem különbözik - igen elterjedt az élők (élesztők, baktériumok, fonalas gombák, növények) világában. Lényeges különbség azonban, hogy az aerob, illetve anaerob körülmények között egyaránt folyó asszimilációs folyamat szigorúan szabályozott körülmények között képződő végterméke, a kénhidrogén nem jelenik meg a környezetben, hanem szerves vegyületekben, aminosavakba épülve hasznosul. Az asszimilációs út biokémiaiilag is eltér a szulfátlégzéstől, amennyiben a redukciós folyamat megindulása foszfoadenilsav-kénsav vegyesanhidrid (PAPS) köztitermék képződését igényli. A reakcióút energiaigényét (ATP) egyrészt a szénforrás lebontásával járó enzimszintű ATP-képződés fedezheti, más esetben az energiaforrás dehidrogénezése közben leválasztott elektronok - a flavoproteinek és citokrómokot tartalmazó láncon végig haladva - teszik lehetővé a szükséges mértékű ATP-képződést. Feltételezhető, hogy a hordozóhoz kötött szulfid redukcióját a növényekben folyó szulfidredukcióhoz hasonlóan, redukált ferredoxin végzi, amit a legtöbb esetben NADPH-függő oxidoreduktáz tart redukált állapotban.

A **SZULFÁTLEGGZÉS** folyamata szigorúan anaerob körülmények között, nyolc elektron felvételével a szulfát kénhidrogénné alakítását jelenti. A folyamatot másnéven deszulfurilizésnek, illetve disszimilációnak nevezhetjük.

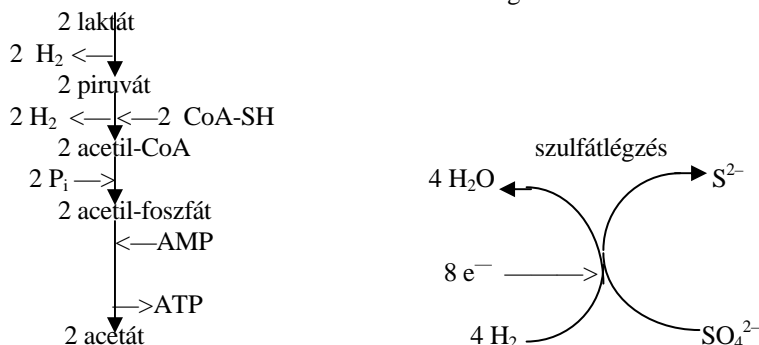


A szulfátlégzésre képes mikroorganizmusok közül a *Desulfovibrio*, a *Desulfotomaculum*, *Desulfobacter*, *Desulfonema*, *Desulfobulbus*, *Desulfococcus* fajok jeleskednek. (Ezeket a fajokat tisztázatlan rendszertani kapcsolataik miatt egyesek a Beggiatoa félék végére sorolják.) A kénhidrogén végül is a mikroba környezetében szaporodik fel. — A szulfátlégző baktériumok lassan növekedő, Gram-negatív szervezetek. Osztódásuk néhány naptól néhány hétre is elnyúlhat. A növekedési görbéjük elsősorban a képződő kénhidrogén mérgező hatása miatt lineáris. Ezen a helyzeten aligha enyhít a jelenlévő nehézfémekkel, elsősorban a vassal való reakció, mert a vas-szulfid kicsapódása vashiányt okoz, ami ezeknél a szervezeteknél növekedést korlátozó tényezőként jelentkezik. Szénhidrátot általában nehezen fogyasztanak, ezért laboratóriumi tenyésztéskor a tápközegbe tejsavat, élesztőkivonatot adnak

#### A SZULFÁTLEGGZÉS VÁZLATA

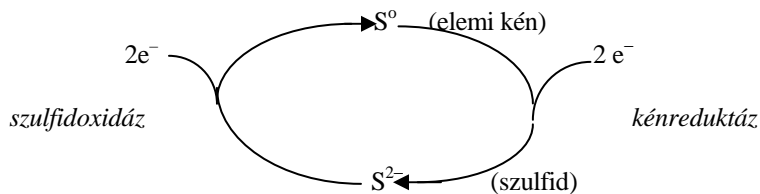


\* Az elektronokat előnyösen a periplazmikus hidrogenáz szolgáltatja. A lebontandó hidrogén szükség esetén valamilyen oxidálható vegyület, például a tejsav acetáttá alakulása közben szabadul fel. A szulfátlégzés indításához szükséges ATP acetilfoszfát felhasználásával képződhet.

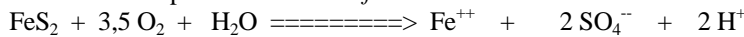


Az evolúció során a szulfátredukáló baktériumok az *Archaeobacterium* fajoktól függetlenül, a zöld szulfidoxidálók után, a tisztán heterotrófoktól elválva, talán a vörös szulfidoxidálókkal egyidőben jelentek meg. Semmiképpen sem tekinthetők a fototróf baktériumok őseinek. A tisztán heterotrófoktól talán ők válhattak el elsőként. Lehetséges, hogy a széndioxid fixálásának lehetőségeit is itt munkálta ki a természet. Mindent összevetve egy korai állapotot jelentenek az obligát anaeroboktól a citokróm alapon szerveződő aerob metabolizmus felé.

Anaerob körülmények között az ősbaktériumok termofil kénhasználói közé sorolt *Desulfuromonas*, *Desulfurococcus*, *Staphylothermus*, *Pyrodictium* fajok az elemi ként is képesek redukálni. Ugyanezt látjuk azoknál a kemotróf, illetve fototróf baktériumoknál (*Beggiatoa*, *Thiospirillum*, *Chromatium*, *Thiocystis*, *Thiotheca* fajok) is, amelyek tartalék elektronforrásként kénszemcséket halmoznak fel sejtjeikben későbbi felhasználásra.



A vasszulfid bontására is képes a *Thiobacillus ferrooxidans*



A Gram-negatív szulfátlélgző (szulfátredukáló) vagy kénredukáló baktériumokat lassú növekedésük miatt nehéz tiszta tenyészetként izolálni. A feladatot valójában az teszi mégis megvalósíthatóvá, hogy kellően híg tenyészetben a szulfid-képződés miatt a telepek feketedése felhívja a mikrobiológus figyelmét a megjelenő, szulfátot redukáló klónokra. A kiválasztott telepek azután a mély agarból kiemelhetők szelektív táptalajra.

Az esetleges fertőzés kimutatása miatt peptont és glükózt tartalmazó agart használnak 0,5 % Mohr-sóval kiegészítve [ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ]. Az anaerob körülmény biztosítása céljából a mély agart sterilizett paraffin olajjal fedik. (A színtelen telepek megjelenése a törzs fertőzöttségére hívja fel a figyelmet!) A Föld minden táján előfordulnak  $-5^\circ\text{C}$ -tól  $104^\circ\text{C}$ -ig, savanyú vagy lúgos körülmények (5-9,5 pH) között. Egyes barofil fajok  $250^\circ\text{C}$ -on a tenger mélyén élnek. A termofilek általában gyorsabban fejlődnek.

A szulfátlélgző kénbaktériumok tenyésztésére alkalmas táptalaj összetétele:

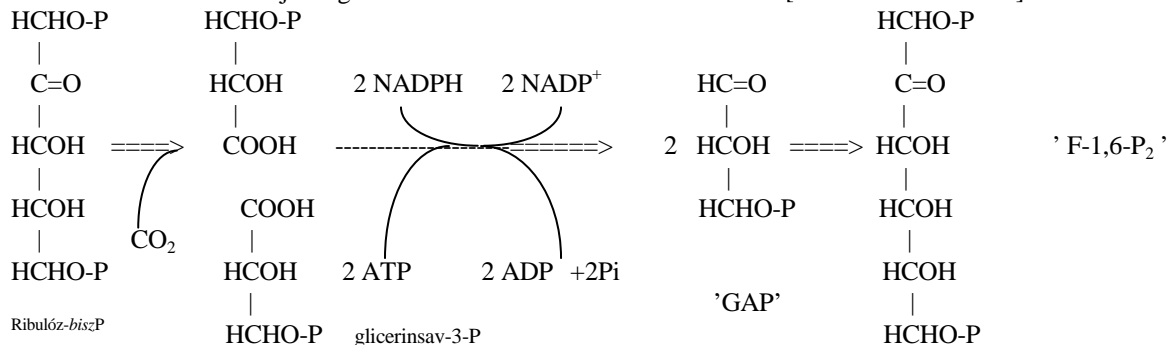
1 liter csapvízben:	0,5 g kálium-dihidrofoszfát	1,0 g ammónium-klorid
	1,0 g kalcium-szulfát	2,0 g magnézium-szulfát
	3,5 g nátrium-laktát	1,0 g élesztőkivonat
	0,1 g aszkorbinsav	0,1 g tioglikolsav
	0,5 g ferroszulfát-heptahidrát	15,0 g agár

/Tengeri eredetű baktériumok esetében a táptalajt 0,7-10 % konyhasóval kell dúsítani./

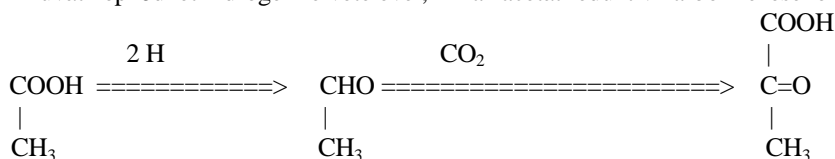
Természetes élőhelyeikről való izolálásukat az ott élők egymást segítő tevékenysége nehezíti, ami a kísérleti nehézségeket csak növeli. Ezzel magyarázható az ismert fajaik csekély száma. A mikrobiológusok szívós, célratorő jellemét bizonyítja, hogy a *Desulfotomaculum* nemzetség néhány fajtát tiszta tenyészetben is sikerült előállítani.

- D. acetoxidans*;
- D. nigrificans*;
- D. orientis*;
- D. ruminis*.

Jellemző rájuk a citokróm b jelenléte és a citokróm c<sub>3</sub> (P-582) hiánya. A bennük előforduló ferredoxinokban molekulánként 4 vasatom található. (*Clostridium* fajokban 8 Fe, a növényekben 2 Fe helyezkedik el az aktív központban.) Hőtűrő fajaik akár 70 fokot is elviselnek, szaporodni azonban csak 35-55 °C tartományban képesek. Törzseik a talajban, geotermikus régiókban, ízeltlábúak bélrendszerében vagy bendőben élnek. A szén-dioxid asszimiláció mindkét módja megtalálható bennük. A ribulóz-biszzfát út [Calvin-Benson ciklus]mellett



Piruvát képződhet hidrogén felvételével, --- az acetát redukív karboxilezésekor.



a *Desulfotomaculum* nemzetség néhány fajának növekedését wolframát, hidroxilamin, 1-5  $\mu\text{M}$  cianid, illetve 0,1-1  $\mu\text{M}$  azid, a szulfátredukciót pedig metil-benzilviologén gátolja.— Az egyik legrészletesebben vizsgált fajuk a bélrendszer lakójaként megismert *Desulfotomaculum acetoxidans*, amely a glükóz hasznosítására is képes. (Az Entner-Doudoroff és az Embden-Meyerhof-Parnas út is működőképes bennük.) Mezofil hőigényű, peritrich ostoros, endospórát képző kemoorganotróf pálca. Növekedésének hőmérsékleti optimuma 36 °C.

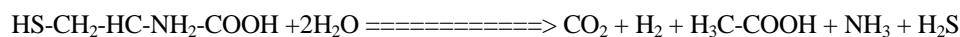
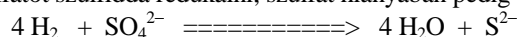
A *D. nigrificans* (ATCC 19998) élettani vizsgálata igazolta, hogy a szulfát-szulfid átalakítás közvetlenül nem termel ATP-t. A szubsztrátszintű ATP-képződés az acetát--oxidációhoz kapcsolódik.

A *Desulfovibrio* nemzetség tagjai poláris ostorral mozgó, nem spórázó, görbült pálcák. Méretbeli változatosságuk egy nagyságrenden belül marad. A légköri nitrogént redukálják.

Az egyik legrészletesebben vizsgált fajuk a *Desulfovibrio vulgaris*, régebbi nevén *D. hildenborough*. Kisméretű, görbült pálca (0,7 x 2,3  $\mu\text{m}$ ). A mikrobacejt átlagosan 31-35 % fehérjét tartalmaz. A vizsgálatok szerint az elektrontranszportláncban szereplő citokróm-c a periplazmikus térben működik. Glükózon növesztve mannózból épülő mukopoliszacharidot termel. Környezetében szénhidrogén képződését is igazolták. Ezekben a fajokban a citrát-szintetáz R-citromsavat termel!

Ismertebb fajaik még a *Desulfovibrio rubentschickii* - amely képes az acetátot is hasznosítani - továbbá a *D. desulfuricans* és a *D. azotovorans*. Ez utóbbi nitrogénkötésre is képes!

A lizozimmal lebontható peptidoglükán sejtfalukban diaminopimelinsav fordul elő. A lizozim hatását a külső membránt lazító EDTA fokozza. (37 °C-on 20 perc alatt lebomlik a sejtfal, ha a reakcióelegyben 50  $\mu\text{g}$  lizozim, 400  $\mu\text{g}$  EDTA és 1 mmol kálium-foszfát van ml-ként.) Ozmotikusan stabilizált körülmények között a szferoplasztképződés penicillinnel is kiváltható. Jellemző rájuk a 13 kDa méretű, 4 hem-et tartalmazó fehérje, a citokróm  $c_3$  és a desulfoviridin előfordulása. Ez utóbbi anyag — 4 Fe 4 S és 2 hem tartalmazó tetramer — kimutatása egyszerű. A sejtek szuszpenziójához 1 csepp NaOH oldatot adva 365 nm-en jellegzetes fényelnyelés észlelhető. Az elektrontranszportban szereplő rubredoxin 1-2 vasat tartalmazó, 60 kDa méretű fehérje, amely oxidálva rózsaszínű (NADH rubredoxin oxidoreduktáz), redukálva színtelen. — A flavadoxin 16 kd méretű, FMN-tartalmú fehérje, amely fontos szerepet tölt be a szulfít redukálásakor valamint piruvát hasznosításakor. A fentiekén kívül sejteikben menaquinon jelenlétét (NADPH menadion-oxidoreduktáz) is igazolták. Légkőből felvett hidrogénnel is képes a szulfátot szulfiddá redukálni, szulfát hiányában pedig ciszteinből kénhidrogént termelni.

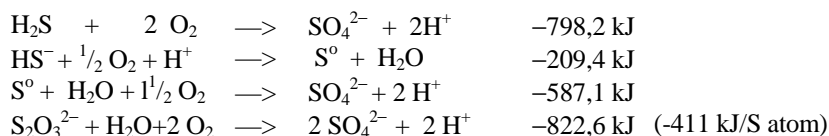


A szulfátredukálók ökológiai rendszerét **SZULFURÉTUM**nak nevezik. Az elmúlt időkben kevésbé vizsgálták az ökoszisztémára kifejtett hatásuk biológiai és élettani alapját. Ennek nehézsége könnyen belátható, mivel az életter élőlényei közötti bonyolult kölcsönhatást egyidejűleg kellene számításba venni. Laboratóriumi vizsgálatokkal a probléma a maga teljességében nem tárható fel. — Metodikai nehézségek miatt az ökológiai rendszerben működő szulfátredukálók számát sem lehet megállapítani kellő biztonsággal. A sekély tengervízben például mililiterenként 1-10 *Desulfovibrio* fordul elő, ugyanazon helyen az iszapban 100-100.000-ig nőhet a számuk. A papírgyár szennyvízbevezetője feletti folyószakaszban mindössze 100 *Desulfovibrio* található, a bevezető alatt viszont a számuk 1 millióra emelkedik. A bárány bendőjében a *Desulfovibrio* mennyisége eléri a  $10^9$  sejt· ml<sup>-1</sup> értéket.

Nehéz feladat a törzsek tiszta, homogén tenyészetének az előállítása; nem csak a fajok lassú növekedése, de olyan esetleg még ismeretlen növekedési faktorok hiánya miatt, amelyeket az ökoszisztémában társaiktól kapnak. Ez az asszociátum sokszor a szintrofizmus (egyik szervezet növekedéséhez szükséges faktort vele együttélő másik szervezet szolgáltatja), illetve a konszorcium (kombinált metabolikus aktivitás) szintjét is elérheti.

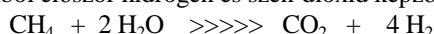
Hosszú ideig például a *Chlorobium* és a *Desulfovibrio* asszociátumát *Chloropseudomonas ethylica* fajnéven tárgyalták. Stabil asszociátumot ad a *Desulfovibrio* a *Methanosarcina barkerii*-vel. A *Desulfovibrio propionicus* élettani viselkedése megegyezik a *Syntrophobacter volnii* és a *Desulfovibrio desulfuricans* asszociátumával. A *Desulfuromonas acetoxidans*-szal a *Prosthecochloris aestuani* vagy a *Chlorobium limicola* alkothat stabil konszorciumot.

Fontos szereplői az ökoszisztémának az aerob-anaerob határterületen működő kemolitotróf kénbaktériumok (*Beggiatoa alba*, *Sulfolobus acidocaldarius*) energianyerő reakciói

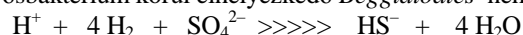


A természetes élőhelyen található szulfurétumban az aerob és anaerob viszonyok határán élő *Beggiatoa* fajok (a tengerben *Thiovulum* fajok) alatt elhelyezkedő, fototróf anaerob szulfidoxidálók fontos szerepet játszanak. Ezek a mikrobák a redukált ként szulfáttá oxidálják. A szulfátot azután a szulfátlégzők redukálják újra kénhidrogénné. A körfolyamatot az évszakos változás erősen befolyásolja.

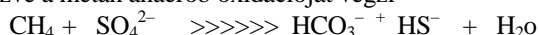
**Az erdei tavak flórájának** összetételét és mennyiségi növekedését nyáron az ásványi anyagok hiánya limitálja. Az oldott oxigénkoncentráció szintje miatt az aerob folyamatok előnybe kerülnek; az algák, baktériumok és a sugárgombák szaporodnak el. Ősszel a lehulló lomb a vízbe kerülve a tó szervesanyag-tartalmát magas értékre emeli. A tó aerob baktériumai elszaporodva elfogyasztják a tápközegből az oxigént és ily módon a fakultatív anaerobok számára kedvezővé alakulnak a körülmények. Ebben az ökoszisztémában találják meg a helyüket a szulfurétum tagjai is. — A tengerfenéken, 600-800 méter mélységben, a metán anaerob oxidációját végző konzortium tevékenységét igazolták. Ilyen mélységben a jelenlevő metán-hidrátot az asszociátum ősbaktérium tagjai (Archaeobacteria) együttműködve a *Beggiatoales* rend képviselőivel a jelenlevő szulfátot kénhidrogénné oxidálva a metán széntartalmát szén-dioxiddá oxidálja. — Feltételezhető, hogy az ősbaktériumban a metonogenezis fordítottjaként a metánból először hidrogén és szén-dioxid képződik



A szulfát redukcióját az ősbaktérium körül elhelyezkedő *Beggiatoales* nemzetség végzi a hidrogén terhére

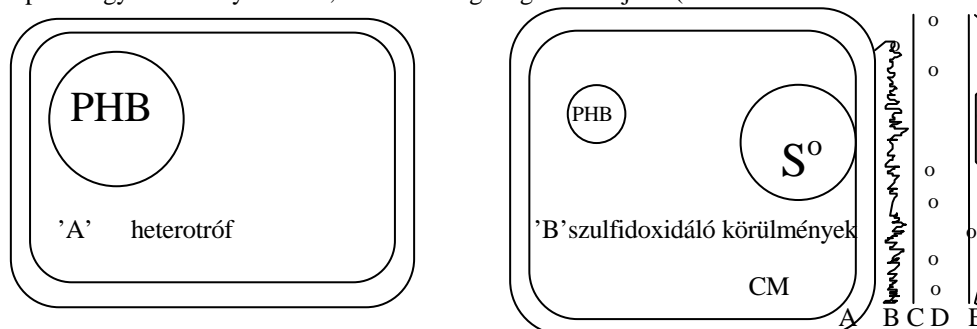


A konsorcium összegezve a metán anaerob oxidációját végzi



A Mexikói öbölben *Calyptogenia Beggiatoa* konsortium jelenlétét mutatták ki a tengeri üledékben..

Fontos szerepet játszanak a szulfurétum fejlődési ciklusában a ***Beggiatoales*** rend képviselői. Egyesek az *Oscillatoria* fajok szintelen, heterotróf alakjának tekintve ismertetik. Mások a heterogén összetételű, gyűjtőcsoportként szolgáló, nem fotoszintetizáló, csúszva mozgó baktériumok közé sorolva tárgyalják őket. A *Beggiatoa* sejtburrok felépítése egy kissé bonyolultabb, mint az eddig megismert fajoké (J. Gen. Microbiol. 128:73-84 1984).

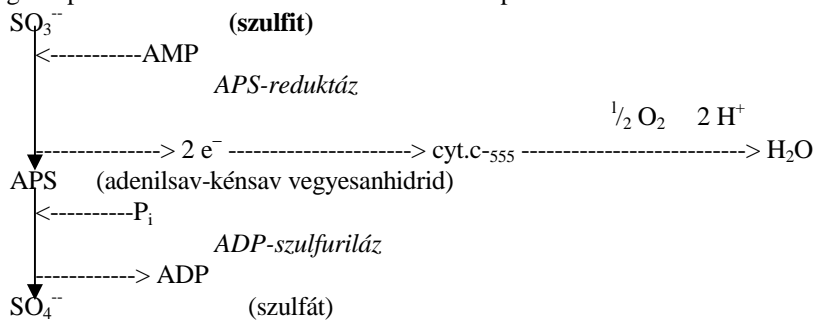


A rajz a *Beggiatoa alba* B15LD jelű törzs két különböző körülmények között növekedő tenyészetének elektronmikroszkópos vizsgálata alapján készült. Az "A" jelű sejt heterotróf körülmények között fejlődött sejt részletet ábrázol polihidroxivajsav (PHB) feldúsulással. A "B" jelű sejt szulfidoxidáló körülmények között fejlődött. A sejt falon belül, de a membránon kívül (mezozómában) kén (S) szemcse kiválása látható. A PHB-szemcse kis méretű, a pórusok mérete nagyobb. A citoplazmamembránon (CM) kívül a sejt alakját jól látható, 4-6 nm vastag peptidoglikán sejt fal (A) határozza meg. Ezen kívül 10-12 nm vastag, háromrétegű, hullámos szerkezetű, lipopoliszacharidban gazdag (B) réteg látható. A következő (C) kompakt réteg vastagsága 6-8 nm, amelyet megint háromrétegű szerkezet borít. Ebben 10-12 nm méretű testecskék láthatók egymástól 12-18 nm távolságban. A külső réteg (E) vastagsága 6-7 nm. A D- és E- réteg között 10-12 nm üres terület figyelhető meg.

Gram-negatív, 2 x 6 µm-es sejtjeik 60-120 µm hosszú, szintelen fonalakat alkotva képesek a vízi üledék felületen tova haladni. A fonalban elhelyezkedő önálló sejtjeik mikroszkóppal nem mindig különböztethetők meg. Tartós alakot nem képeznek. Édes és sós vizekben, nedves talajban gyakran előfordulnak. Nevüket F. S. Beggiato, Vicenza városka neves fiziológusára emlékeztetve nyerték. Legismertebb képviselőjük a Trevisan által 1842-ben, majd Winogradsky által 1888-ban leírt *Beggiatoa alba*, amely rosszul levegőző tavak fenekén, az iszapréteg felszínén, tehát mikroaerofil körülmények között, azon a határfelületen él, ahol az anaerob iszap és az aerob vízréteg között

határozott oxid-szulfid gradiens alakul ki. Szénmonoxidra érzékeny citokróm-rendszerük van. Hasznosítható nitrogénforrás hiányában a légköri nitrogén megkötésére is képesek, de csak bőséges szulfidellátás esetén. Ez a baktérium különösen olyan tavak fenekén szaporodik el, ahol az iszapban a kénhidrogén feldúsul. Kénhidrogén bőség esetén sejteiben a kénszemcsék nagy mennyiségben halmozódnak fel. Kénhidrogén hiánya esetében ez a kén oxidálódik szulfáttá, amit a mikroba a környezetbe választ ki. Újabb kénhidrogénes expozíció esetében hamarosan újra megjelennek a kénszemcsék a sejtfalon belül, a citoplazma mezoszómaszerű betüremléseiben. A fonalban szaporodó sejtek ketté osztódva a fonal hosszirányú növekedését okozzák. Katalázuk nincs, ezért előfordulhat a hidrogénperoxid feldúsulása, ami a sejtek autólízisére vezethet. Szaporodási sebességük az *Oscillatoria* fajokhoz hasonló. Egy g iszapban 0,4-0,6 mg *Beggiatoa* sejt található. Sejteikben heterotróf életkörülmények között polihidroxi-vajsav és polifoszfát felszaporodása figyelhető meg. —

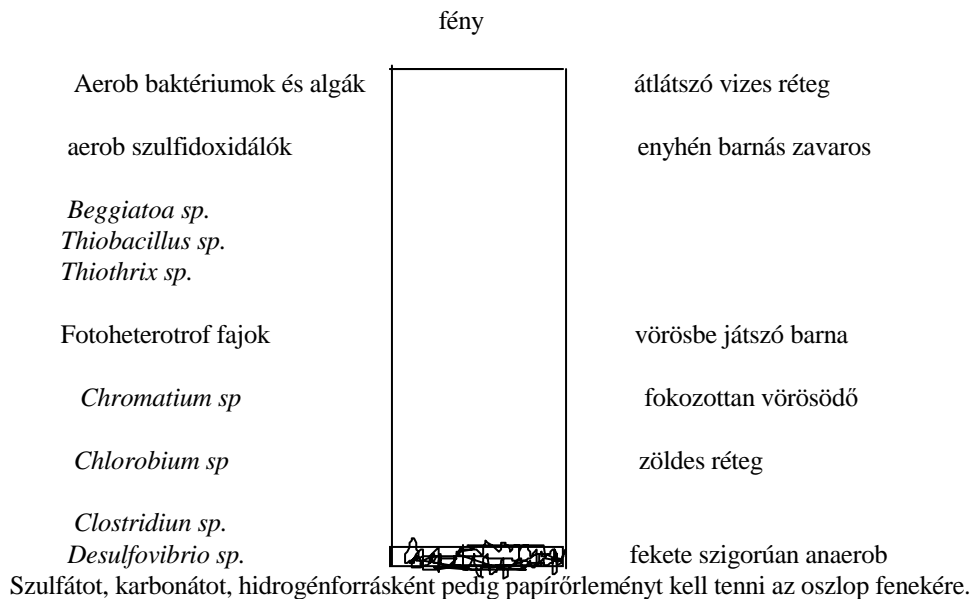
Az elemi kén szulfáttá oxidálása energiaforrást jelent olyan aerob kemolitotrófok számára, mint amilyenek a Gram-negatív *Thiobacillus thiooxidans* vagy a különböző kénhasználó *Archaeobacterium* törzsek. Ez esetben nem a szulfátlégzés reakciónak megfordításáról van szó, hanem (a glükóz reszintéziséhez hasonlóan) erre feladatra szolgáló speciális enzimek vesznek részt a szulfátképzésben.



Ugyancsak fonalas szerkezetűek eredeti élőhelyükön a *Thioplaca*, *Thiothrix*, *Leucothrix*, *Vitreoscilla* fajok. Ezek feltűnően savanyú körülmények között 5-10 %-os kénsavban is képesek szaporodni. A betont és a kőfalat is megtámadják. Morfológiailag a *Beggiatoa*-hoz hasonlítanak; valamennyien a cianobaktériumok szintelen változatainak tekinthetők.

### WINOGRADSKY OSZLOP VÁZLATA

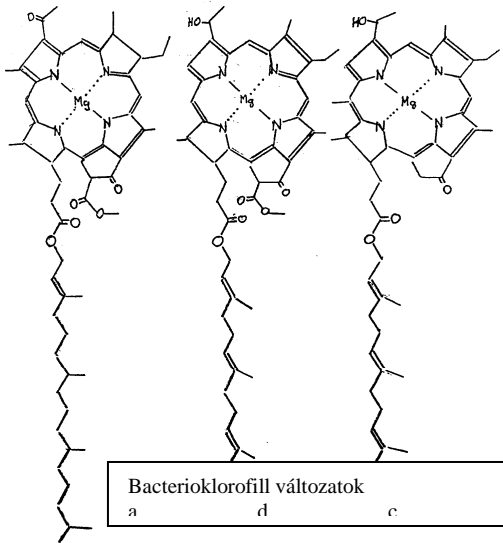
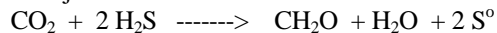
A szulfurétum elemeit tartalmazó rendszer működését laboratóriumi körülmények között Winogradsky által alkalmazott eszközben modellezni lehet. Iszapos tóból vett szuszpenzióval kell indítani a több-kevesebb fáradtsággal tartósan fenntartható egyensúlyi rendszert. A henger alján a szulfátlégzők számára kedvező körülményeket kell teremteni.



# OXIGÉNT NEM IGÉNYLŐ FOTOTRÓF BAKTÉRIUMOK (Rhodobacteria)

Változatos (kokkoid, spirális, pálcika, vibroid) alakú, Gram-negatív festődésű, egysejtű, 0,3-6 μm átmérőjű szervezetek; néha többsajtű fonalat is alkothatnak. Mozgékony egyedeik poláris vagy peritrich ostorral rendelkeznek. Ma ezek a különleges tulajdonságú szervezetek a régmúlt idők élő kövületeiként a felszíni vizek mélyebb, oxigénmentes, kénhidrogénben dús rétegeiben, fényszegény körülmények között élnek.

A mikrobák egy csoportjában a fotoszintetizáló szervezetek fontos anatómiai elemeként gázvakuóla található, amely a gravitációval szemben a mikroszervezetet a fotoszintézis szempontjából legkedvezőbb vízmélységben tartja. Ez a szerv a helyváltoztató szervekkel nem rendelkező mikrobák számára létfontosságú. Tartalék tápanyagként polifoszfátot és polihidroxivajsavat halmoznak fel, másoknál energiarendszerük működésének eredményeként kénszemcsék kiválását tapasztalhatjuk. (A kénszemcsék megjelenése rendszertani elkülönítésükre ad lehetőséget.) Általában osztódással, egyes fajaik bimbózással szaporodnak. Festéktartalmuktól függően változatos színekben pompáznak, a vöröstől a sárgás barnán keresztül a zöldig. Energianyerő rendszerük a fényenergia hasznosításával biztosítja az élet fenntartásához szükséges elektronáramlást. Anaerob körülmények között fotoszintetizálnak. Elektronforrásként főleg a kénhidrogént oxidálják.

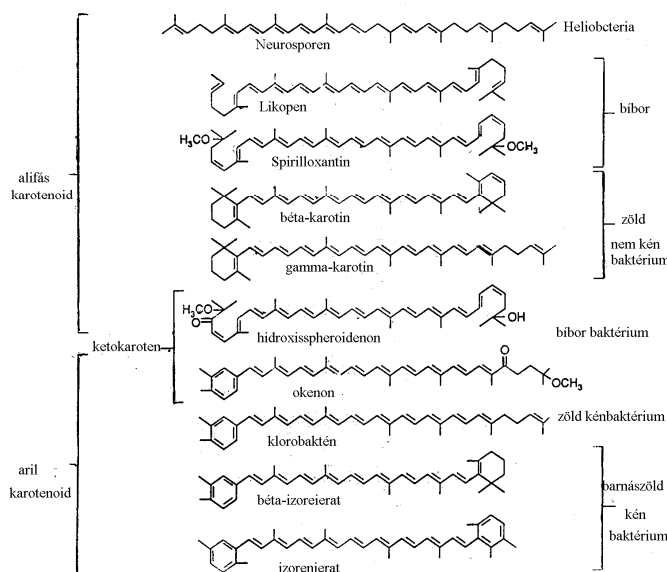


Bakterioklorofill változatok  
a d c

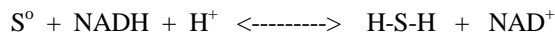
A kénszemcsék megjelenése a sejten belül vagy azon kívül valójában a fotorendszert elektronnal feltöltő mechanizmus működésének a következménye. Elektrononorként szerepelhet még a molekuláris hidrogén vagy valamilyen oxidálható szerves vegyület. Növekedésük szempontjából optimális, ha a légkör 95 % nitrogént és 5% széndioxidot, a tápközeg pedig ammóniumsót, nátrium-szulfidot és kevés B<sub>12</sub> vitamint tartalmaz. Az idesorolt fajok jellegzetes tulajdonságait a 3 milliárd évvel ezelőtti különleges életkörülmények, az anaerob redukáló környezet és a magas széndioxid-tartalom mellett, az állandó felhőtakaró jelenléte magyarázza. A bennük előforduló bakterioklorofilok (a,b,c,d,e,g) több-kevesebb mértékben különböznek egymástól. Közös azonban a klorofill-a pigmenttől (bakterioklorofilok fényelnyelése a:850-1000 nm, d:850-1000 nm c:735-750 nm) való egyértelmű megkülönböztetőségük. Nevezetesen a cyanobaktériumokban előforduló klorofill-a-nak a 2-etilén oldalláncát a bakterioklorofilokban ennek oxidált alakja helyettesíti. A bakterioklorofill és a növényvilágban elterjedt klorofill között fellelhető viszonylag csekély szerkezeti eltérés döntő fizikai-kémiai különbséget jelent. A bakterioklorofill ugyanis a fény vörösön túli tartományát is képes hasznosítani.

A magnéziumot tartalmazó különböző **bakterioklorofill** származékok valószínűleg az elektrontranszportban fontos feladatot ellátó, vasat tartalmazó hem-szerkezetből alakultak ki. Ezeket a tetrapirrol festékeket izoprén-egységekből felépülő fitil, illetve farnezilláncok rögzítik a membránba.

A fotoszintetizáló enzimkomplexben fontos szerepet tölt be a fényenergia hasznosításakor az izoprén egységekből felépülő színanyag, a **karotin**, amely a fajra jellemző karotének keverékeként található a fotobaktériumok membránjában. Szerepük a fényenergia összegyűjtésével, a klorofill határfokának a növelése. A fotoszintetizáló rendszerük, a különböző bakterioklorofill és karotén származékokból álló fénygyűjtő pigmentek, valamint az elektronhordozó fehérjék és lipidek nem egyenletesen elosztva, hanem rendszertani csoportok szerint eltérő módon szerveződve működnek.

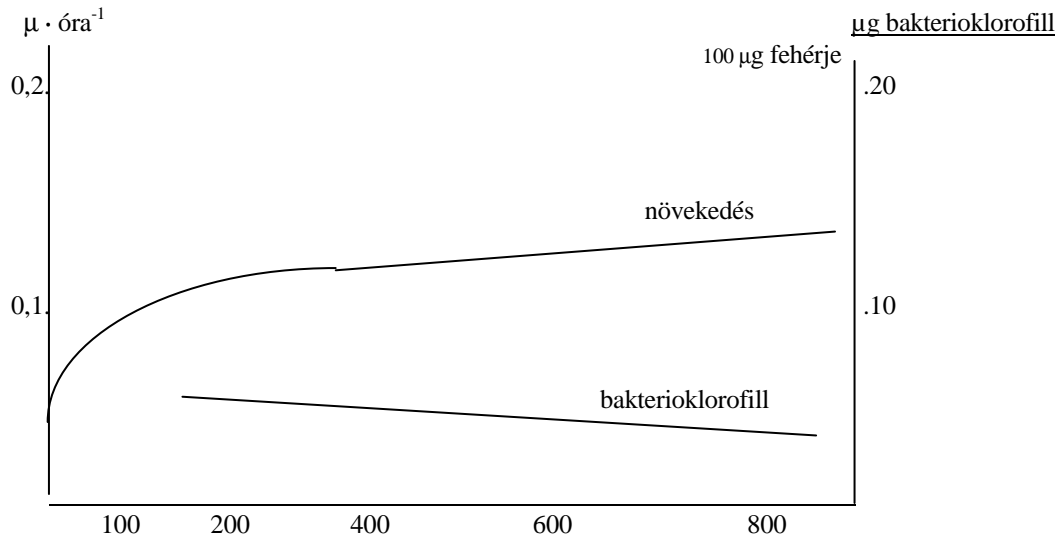


A fotoszintetikus folyamat első lépése az elektron fényaktívált átvitele a bakterioklorofillról a 6 kDa méretű, negatív redoxpotenciálú vas-kén fehérjére, a **ferredoxinra**. A redukált ferredoxin visszaoxidálása redukált kofaktorok képződését teszi lehetővé. A redukált piridinnukleotidok felszaporodása az életfontosságú dehidrogénezési reakciók leállításával járhat. Ezt az élettani problémát az anaerob légzés, valamilyen szerves vegyület, esetünkben a kén redukálása oldja meg.



A redukált ferredoxin visszaoxidálása annyi energiát szolgáltat, mint a hidrogén oxidációja, azaz bőven elegendő egy-két ATP képződéséhez. Redukált ferredoxin segítségével anaerob körülmények között, a szén-dioxid megkötését a redukált dikarbonsav-ciklus segíti. — A ciklikus fotofoszfóriláció esetében a flavoproteint, kinont és citokrómokat tartalmazó transzportmechanizmus segítségével kerülhet vissza az elektron a klorofillra. A nem ciklikus fotofoszfóriláció esetében elektrondonorként a víznél alacsonyabb potenciállal bíró vegyület, hidrogén vagy kénhidrogén szerepelhet.

A fotoszintetikus rendszer elektronmikroszkóppal jól kimutatható szerkezete csak anaerob körülmények között, fény hatására, néhány órás látens időszak után alakul ki. A fotoszintetizáló rendszer néhány órás működése a kénszemcsék megjelenésével jár. Sötétben a kénszemcséket hasznosító anaerob légzőrendszer lép működésbe. A kénszemcsék kiválása (fényben), illetve hasznosítása (sötétben), a tiszta tenyészet fenntartására is előnyösen használható. Ebből a célból a minimál médiumra oltott tenyészetet 1,5 mM szulfid jelenlétében néhány órán keresztül megvilágítják. Ez idő alatt a sejtekben a kénkiválás bekövetkezik. Ezeket a sejteket ezután sötétben több hónapig lehet 4°C-on tartani. — Néhány óra szobahőmérsékleten történő fényexpozícióval a kénszemcsék újra termelhetők. A tenyészet e kezelés után ismét hűtőbe tehető, ahol az anaerob körülményeket a tenyészetre rétegzett paraffin olaj biztosítja. — A fototróf mikrobák színük alapján vörös, illetve zöld baktériumokra, anyagcseréjük alapján pedig tovább oszthatók nem kénbaktériumokra és kénbaktériumokra.



Fényintenzitás (gyertyafényben) hatása a *Rhodospirillum rubrum* növekedésére (specifikus növekedés/óra) és bakterioklorofill tartalmára (mg klorofill/100 mg fehérje).

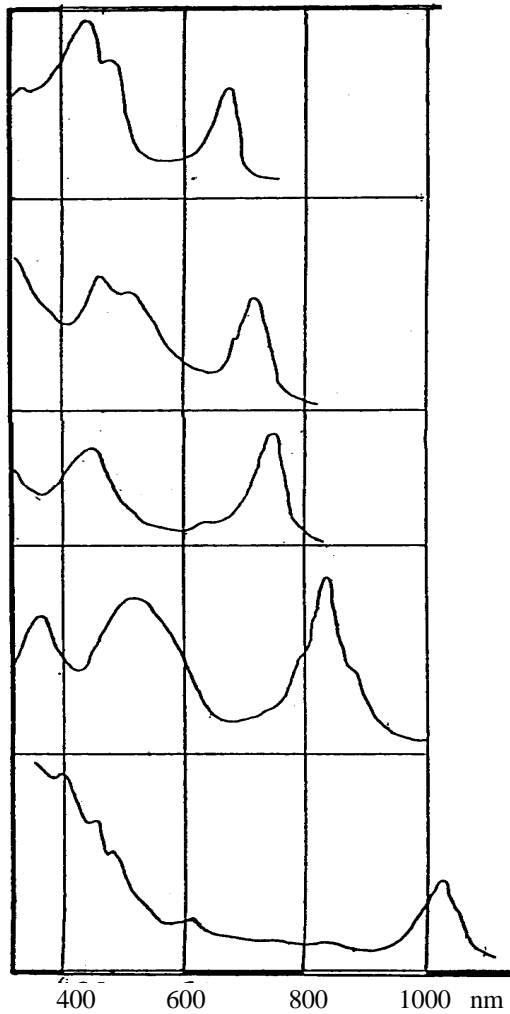
### VÖRÖS NEM KÉNBAKTÉRIUMOK (Rhodospirillaceae - Athiorhodales).

A nevükből is következtethetően fotoorganotróf módon szerves vegyületeket hasznosítanak. Legtöbb fajuk azonban folitoautotróf módon a molekuláris hidrogén eloxidálásával nyert elektronokat is hasznosítja. Semleges körülmények között a szulfidból, tiosulfátból, tetratióntól származó kén soha sem halmozódik fel a sejteiken belül.

A *Rhodospirillum* fajokban a citoplazmamembránból a sejt belsejébe türemlő hólyagocskák tartalmazzák a bakterioklorofillal működő elektrontranszport-rendszert. A hólyagocskák minden esetben kapcsolatban vannak a periplazmikus térrel. Legismertebb közülük egy természetes vizeinkben élő, poláris ostorral mozgó vibroid, a *Rhodospirillum rubrum*, amiből 7-10 μm hosszú, S alakú képletek alakulhatnak ki. Ez a faj széndioxidot, hidrogént és ammóniát hasznosítva, anaerob körülmények között, rövid generációs idővel építi fel szervezetét. A szulfátot csupán kénforrásként használja sejteinek felépítéséhez. Kevés oxigén jelenlétében is képes



növekedni. Borostyánkősav és élesztőkivonat gyorsítja a szaporodást. A sötétben tartott tenyészet színmélysége csökken (színtelenedik).



*Chlorella pyrenoides*

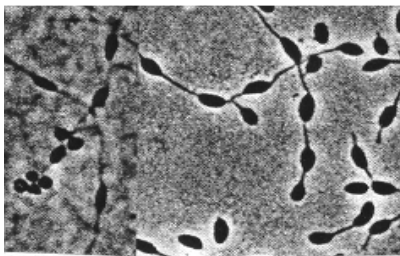
*Chlorobium phaeobacteroides*

*Chlorobium thiosulfatophilum*

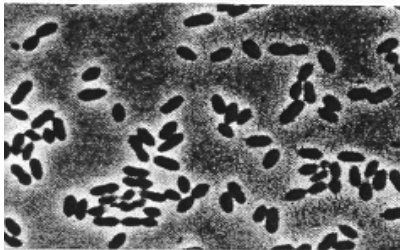
*Chromatium okenii*

*Rhodopseudomonas viridis*

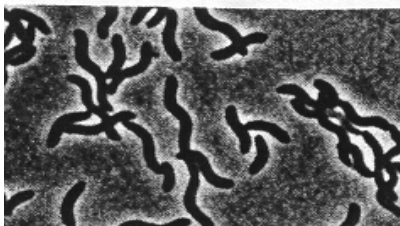
**Fototróf mikrobák abszorpciós spektruma**



A *Rhodomicrobium vannielii* C. B. van Niel amerikai mikrobiológus nevét viseli. Az egymáshoz kapcsolódó fonalak miatt tenyészhelyén mozdulatlan szövedéket alkot. Aerob körülmények között tenyésztve színtelen.



*Rhodopseudomonas acidophila*



*Rhodospirillum molischianum*

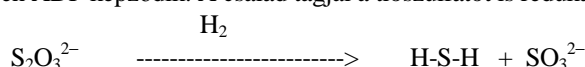
*Rhodospirillum fulvum* sejtjei az előbbinél rövidebbek, p-aminobenzoészav jelenlétében 25-30 °C-on jól fejlődnek. Ammónián kívül a légköri nitrogént is képesek hasznosítani.

*Rhodopseudomonas spheroides* sejtjeiben két membrán jelenlétét igazolták a vizsgálatok. A külső membrán lipopoliszacharid rétegében a glükózamin helyett 2,3-diamino-2,3-didezoxi-D-glükóz fordul elő.

### BÍBOR KÉNBAKTÉRIUMOK (Chromatiaceae - Thiorhodales).

Morfológiailag különbözőek; lehetnek gömb, ovális, vibrio, rövid pálcika, spirális alakúak. Jellemző rájuk a sejtben található kénszemcsék feltűnően nagy mennyisége. A tavak oxigénmentes, kénhidrogénben dús rétegében élnek. Különösen elszaporodnak, ha a víz felső rétegében élő algatömeg gyakorlatilag fényben szegény anaerob körülményt biztosít a mélyebb szinten élők számára. — A bíbor kénbaktériumoknál a citoplazmamembránból beöblösödő képletekben működik a fotoszintetizáló enzimkomplex, amely általában bakterioklorofill-a és -b színanyagot tartalmaz. Az UV sugárzás károsító hatása ezeknél a szervezeteknél nem jelentkezik. Negyvenszer rezisztensebbek mint a cianobaktériumok. Elektronnyerő folyamat egyik elterjedt módjaként a bennük feldúsuló elemi kén képződését katalizálja a szulfid-oxidáz. A leválasztott elektronokat a citokró-m-c<sub>555</sub> veszi át, majd továbbítja a bakterioklorofillhoz. A kénszemcsék sejten belüli felszaporodása mikroszkóppal jól követhető.

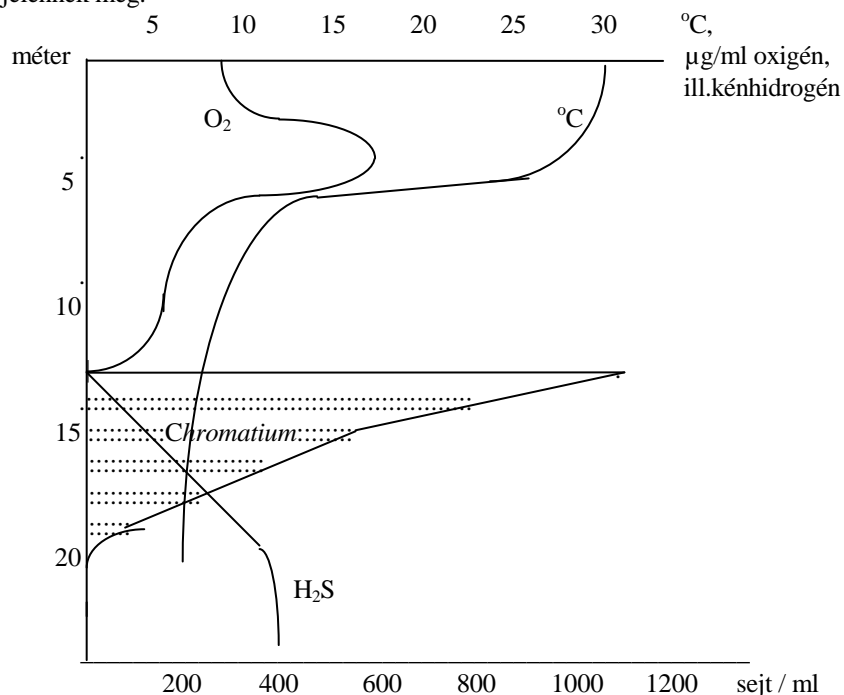
A *Chromatiaceae* családba sorolt fajok elektrononorként a kénhidrogénnel kívül elemi ként is képesek hasznosítani. Az ide sorolt fajokban a kén szulfáttá oxidálásához szükséges teljes enzimszintézis működőképes. Ennek megfelelően előfordul bennük egy olyan flavint és két hemet tartalmazó APS-reduktáz, amely szulfitból és adenilsavból adenilsav-kénsav vegyes-anhidridet képez, miközben ő maga redukálódik. A két elektront a citokró-m-c<sub>555</sub> veszi át az enzimről. Az utolsó lépésben egy ADP-szulfuriláz az APS-ből anorganikus foszfáttal kicserélve felszabadítja a szulfátot, miközben ADP képződik. A család tagjai a tioszulfátot is redukálják.



A *Chromatium okenii* (L. Oken német természetbúvár) poláros ostorral mozgó, viszonylag nagyméretű (4 x 10 µm), obligát fototróf, szigorúan anaerob szervezet.

A *Chromatium vinosum* faj régóta ismert. Az 1838-ban kiadott Ehrenberg Atlaszban is szerepel *Monas vinosa* néven. Anaerob körülmények között fototróf; mikroaerob körülmények között fakultatív kemoautotróf, illetve mixotróf. Tengervízből izolálható, sóigényes (1-2 %). Thiele szerint a szulfát asszimilációjára is képes.

A *Chromatium warmingii* (E. Warming dán botanikus emlékére) mocsárban, kénhidrogént tartalmazó tófenéken él. A kénszemcsék a sejtben polárisan helyezkednek el. A sejt osztódásakor a kénszemcsék a készülő új válaszfal közelében jelennek meg.



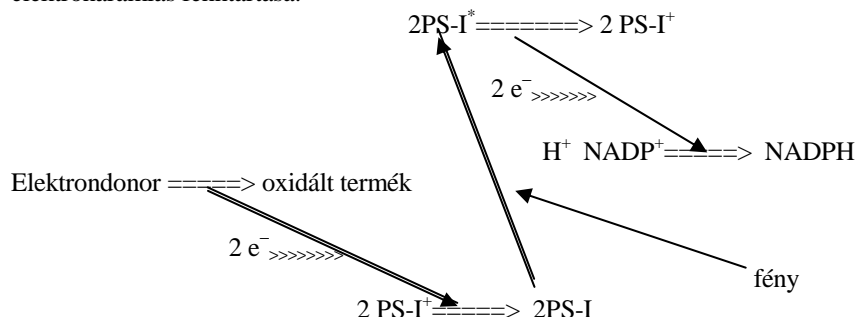
Kénhidrogént hasznosító *Chromatium* előfordulása (pontozott terület) a Belowod tóban Kusnezow S.J. vizsgálatai szerint a mért hőfok, oxigén és kénhidrogén tartalom függvényében.

A *Thiocystis violacea* tengeri mocsaras területről izolálható. A *Thiospirillum jenense* (Elnevezése Jénára utal, ahol Ehrenberg felfedezte és leírta *Ophidomonas jenensis* néven.) 30-40 µm hosszú, szigmoid szervezet, nagy mennyiségű kénszemcsével. A *Thiothece gelatinosa* kisméretű, enyhén sötét, Winogradsky által izolált törzs, amelynek mai neve *Thiocystis gelatinosa*.

A bíbor kénbaktériumok közé sorolt *Ectothiorhodospiraceae* családra jellemzően a képződő kén a baktérium környezetében halmozódik fel. Sötétben ezek a baktériumok az aerob környezetet is elviselik.

## ZÖLD KÉNBAKTÉRIUMOK (Chlorobiaceae)

Szulfidtartalmú vizekben, szigorúan anaerob körülmények között élő, fotolitoautotróf szervezetek. A zöld kénbaktériumokban a membránhoz kapcsolódó vezikulumokban lévő tilakoid tömlőkbe, úgynevezett kloroszómákba szerveződik a fotorendszer. Fototróf pigmentjük általában bakterioklorofil-c és -d. Minimális mennyiségű bakterioklorofil-a komponens mellett karotinként klorobaktént tartalmaznak. Feladatuk a nem ciklikus anaerob elektronáramlás fenntartása.



A barna színű fajokban, például a tengervízben élő *Chlorobium phaeobacteroides* (φαιος barna) fajban bakterioklorofil-e és nagy mennyiségű izoreneriát fordul elő. Sejtjeik összetapadva általában fonalat alkotnak, sokszor konszorciumba szerveződve, szimbiózisban élnek más mikroorganizmusokkal.

A család részletesen vizsgált tagja a *Chlorobium limicola*. Alig  $1\ \mu\text{m}$  méretű, rövid pálcikák, amelyek fonalakba rendeződhetnek. Környezetükben minden esetben nagy mennyiségű kénkiválás figyelhető meg, de képesek a kén-szulfidra redukálására is. Jelentős aktivitású a flavint és két hemet tartalmazó APS-reduktázuk, amely szulfidból és adenilsavból adenilsav-kénsav vegyesanhidridet képezve átmenetileg redukálódik, majd az elektronokat a citokróm- $c_{555}$ -nek adja át.

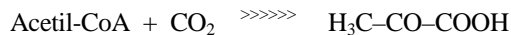
*Chlorobium thiosulfatophilum* tioszulfát hasznosítására is képes. Vibroid sejtjeiből felépülő fonalszerű képződményeik spirálisan helyezkedhetnek el. (Analitikai laboratóriumok tioszulfát mérőoldataiban is megjelenhet!) Ezzel szemben a tengerek elzárt öbleiben élő, barna telepeket alkotó sötét faj a *Chlorobium phaeovibrioides* tioszulfátot nem hasznosít!

A *Pelodictyon* fajok sejtjei általában háromdimenziós hálózatot alkotva, gömbszerű aggregátumok formájában lelhetők fel. A legismertebb *Pelodictyon clathratiforme* fajt ez ideig nem sikerült tisztán, homogén tenyészetként elkülöníteni a hálózatban megbúvó társaktól. Az Y- alakú sejtjeik szaporodáskor általában három utódsejtre hasadnak.

Ugyanez a nehézség merül fel a konszorciumokba szerveződő baktériumoknál. Általában  $12\text{-}24$  kisméretű zöld vagy barna kénbaktérium helyezkedik el valamilyen ostorral rendelkező nagyobb baktérium körül. Szétválasztásuk eredménytelen volt, pontosabb leírásukra még várni kell. Számos kevésbé differenciált, soksejtű zöldbaktériumot ismer még az irodalom. Ezek a fakultatív anaerob fotoheterotrófok főleg bakterioklorofil-a színanyagot tartalmaznak, ezért színük inkább kék..

## ZÖLD NEM KÉNBAKTÉRIUMOK

A zöld kénbaktériumoktól jól elkülöníthetők a fonalas szerkezetű zöld nem kénbaktériumok. A Chloroflexus csoport tagjai (*Chloroflexus*, *Oscillochloris*, *Heliobacterium*) kemoorganotrófként sötétben az oxigén jelenlétét is elviselik. Fototrófként cukrot, aminosavat és szerves savakat is hasznosítanak, de fotoautotrófként  $H_2$ ,  $H_2S$ ,  $CO_2$ -ből is képesek felépíteni szervezetüket. A szén-dioxid megkötés a reverz citrátkörben folyik, illetve ferredoxin segíti a piruvát képződést



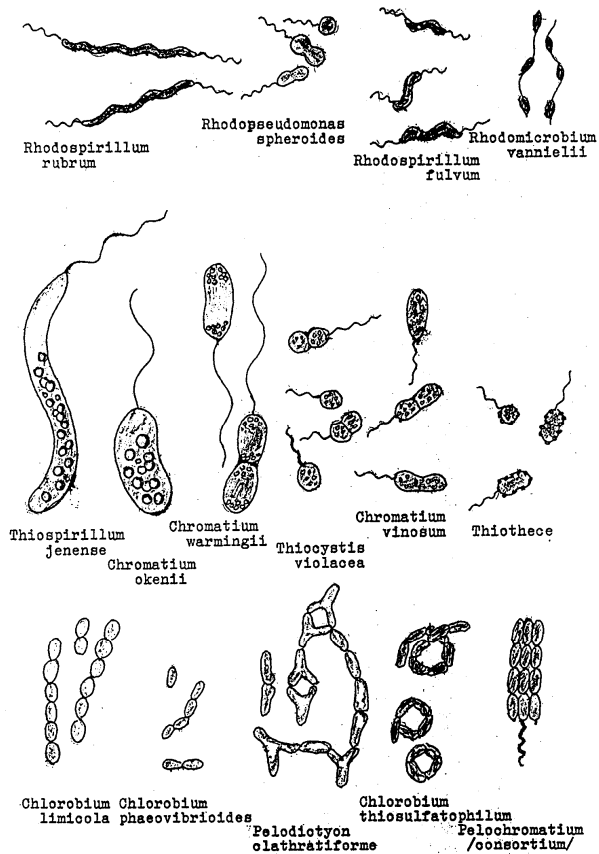
Ide sorolható egy, az eddigiektől teljesen különböző, anaerob módon növekedő, lizozimra érzékeny, fotoheterotróf faj, az 1985-ben izolált *Heliobacterium chlorum* (ληγε nap, χλωρος zöld) (ATCC 35205). Az oxigén sötétben és világosban egyaránt toxikus számára; ezért tenyésztésekor a tápközegbe tioglikolsavat és aszkorbinsavat tesznek. Fényenergiát a farnezil-lánccal rögzített bakterioklorofil-g (798 nm) tartalmú pigmentjük hasznosítja. Elektronforrásként nem használja a hidrogént, sem a szulfidokat. Kénforrásként a szulfát ugyan megfelel, de savanyító hatása miatt csak a növekedés megindulásához szükséges mennyiségű ammonium-szulfátot tartalmazhat kezdetben a táptalaj. A baktérium virulens tenyésztése a légköri nitrogén kötését, talán az anyagcsere-egyensúly kialakítása szempontjából, előnyben részesíti.

**FOTOTRÓF SZERVEZETEK AZONOSÍTÁSA** természetes fényel megvilágított edényekben

Szerves anyagot tartalmazó táptalajban anaerob	Szerves anyagot nem tartalmazó tápközegben			
	Kénhidrogén jelenlétében		Szén-dioxidban dús közeg	
	anaerob	anaerob		
	alacsony szulfid-tartalom	magas szulfid-tartalom	nitrát-, ill. ammónia-tartalom	csak légköri N <sub>2</sub> jelenléte
vörös nemkén baktérium <i>Rhodospseudomonas</i>	vörös kén baktérium <i>Chromatium</i>	zöld kén baktérium <i>Chlorobium</i>	alga <i>Zöldalga</i>	kék-baktérium <i>Cyanobacteria</i>

A *H. chlorum* növekedésére kedvezően ható gázelegy 85 % nitrogént, 10 % hidrogént és 5 % széndioxidot tartalmaz. Érdekessége miatt említendő, hogy ismeretes egy bakterioklorofill-a színanyagot tartalmazó, kemoorgano-heterotróf, egyetlen ostorral mozgó Gram-negatív mikroszervezet, az *Erythrobacter longus*, amely szerves anyag hiányában, aerob körülmények között képes szén-dioxidkötésre.

A fototróf baktériumok néhány csoportja az evolúció színpadán talán az eubaktériumok őseiként a körülmények kedvező változását követően - elvesztve fényigényüket - kemolitotrófokká, illetve a felhamozódó szerves anyagot hasznosító gazdaságosabb energianyerő módszert kifejlesztve — kemoorganotrófokká válhattak.



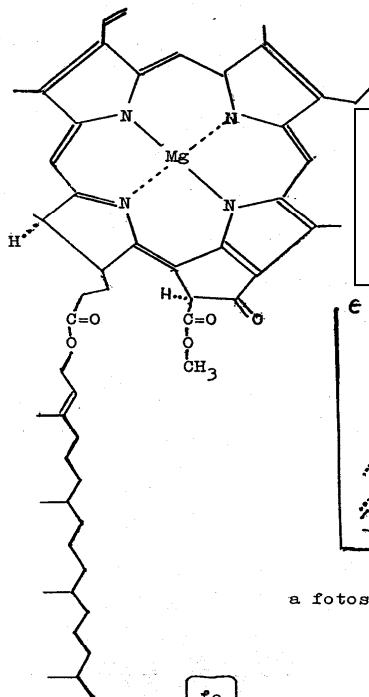
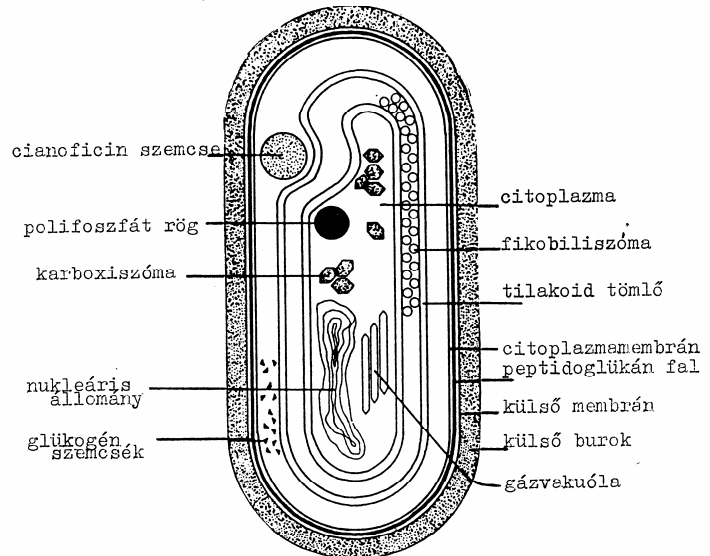
**Oxigén érzékeny fototróf baktériumok rajza**

# OXIGÉNT TERMELŐ FOTOSZINTETIZÁLÓ PROKARIÓTÁK

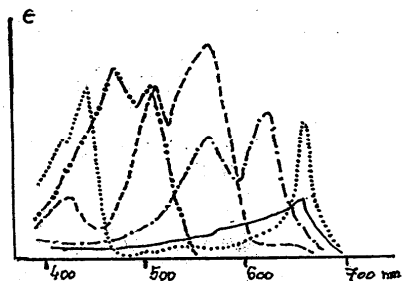
Az idesorolt mikroorganizmusokat Linnaeus (1753) véleménye alapján hosszú ideig az algák között ismertették. Az utóbbi időkig használt Cyanophyceae elnevezést (Sachs, 1874) a κυανος kék és φυκος alga szavakból alkották. Az eubaktériumokkal való rokonságuk már a múlt században is felvetődött; Cohn (1875) például a Schizophyta divízióba Schizophyceae névvel, a baktériumok (Schizomycetes σχιζω hasadó μυκος gomba) mellé sorolta őket. A bakteriológusok és a botanikusok évszázados vitáját a vizsgáló módszerek fejlődése és a rendszertani kategóriák pontosítása döntötte el. E követelmények elfogadása mindkét terület (alga és prokariota) fejlődését szolgálta. Mai rendszertani helyüket csak a századunk második felében kifejlesztett sejtbiológiai, biokémiai, élettani, genetikai és morfológiai vizsgáló módszerekkel nyert eredmények erősítették meg. Ennek köszönhetően nyert elfogadást a Stanier által (1978) javasolt Cyanobacteria (Kékbaktériumok) megnevezés.

A kékbaktériumok olyan vízben vagy nedves helyeken élő egysejtű szervezetek, amelyek szerkezeti felépítésük és anyagcsererendszerük alapján egyértelműen az eubaktériumok közé sorolhatók. Ezek a prekambriumban megjelenő fotoszintetizáló mikroorganizmusok fontos szerepet töltek be az aerob életfeltételek kialakításában, és azóta is fontos a szerepük az aerob életkörülmények fenntartásában. A sejtek speciális festéssel kimutatható DNS-tartalma és a riboszómák főtömege a citoplazma középső területén, az úgynevezett centroplazmában található. A kékbaktérium genom kisebb mint  $4 \times 10^9$  dalton. Tapasztalat szerint az életfontosságú információk a kromoszómán több példányban vannak jelen, ami a feltűnő UV-rezisztenciájukat magyarázhatja. Erre minden bizonnyal szükségük is volt, mert a cianobaktériumok megjelenésekor a földfelszín érő UV-sugárzás intenzitása a mainál lényegesen nagyobb volt.

Cianobaktérium

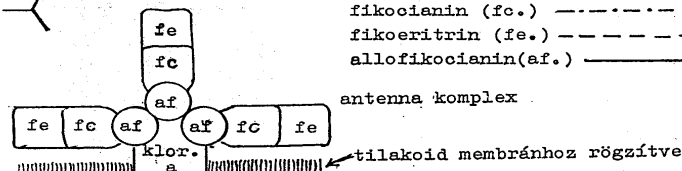


A **KLOROFILL-a** szerkezete a **FOTOSZINTÉZIS** pigmentjeinek spektrumával és a tilakoid membránhoz rögzített **ANTENNA KOMPLEX** vázlatja



a fotoszintézis pigmentjeinek spektruma

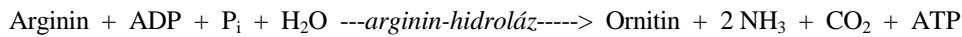
- Klorofill-a (kl.a) .....
- $\beta$ -karotin .....
- fikocianin (fc.) .....
- fikoeritrin (fe.) .....
- allofikocianin (af.) .....



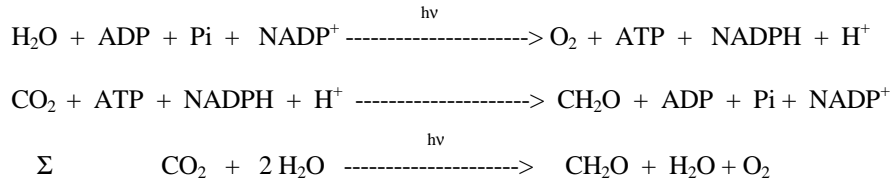
Közel kétezer ismert fajjal a sarkvidéktől a trópusokig mindenhol előfordulnak. Egyesek a gazdanövényeik szövetüregeiben tenyésznek, mások gombákkal élnek szimbiózisban. Feltehetőleg a növényi kloroplasztok kialakulásában is szerepük volt. A kékbaktériumok Gram-negatívan festődő, kemolitotróf szervezetek. Morfológiailag heterogének: gömb, ellipszoid, ovoid, hengeres, piskótaszerű, félhold alakú formáik ismertek. Tenyészeteikben sokszor gélyszerű, más esetben meglehetősen szívós, mindössze 10-20 % polipeptidet tartalmazó poliszacharid (pektin) burokkal összetapadt telepeket, illetve hüvellyel körülvett fonalakat, látszólag többsejtű szerveget alkotnak. A hüvelyben egyes esetekben (trichoma) mikrofibrilláris szerkezet látható, más esetben kalcitkristályok vagy fémvegyületek feldúsulását észlelhetjük. A hüvelyben esetenként felgyülemelő vörös, sárga vagy kék festékanyagok élettani szerepe ismeretlen. Általában osztódással szaporodnak, de ismeretesek olyan fajaik is, amelyek sarjadzással hozzák létre leánysejtjeiket. Többségük



Szükség esetén van mihez nyúljon a mkikroszervezet

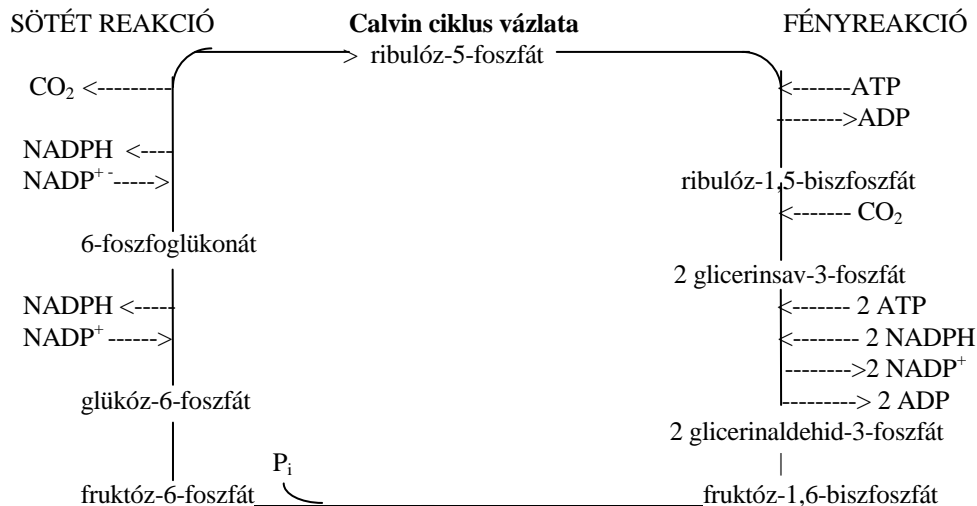


Ugyancsak a tilakoidokon kívül helyezkednek el a sokszögű testecskék formájában megjelenő karboxiszómák, amelyekben a széndioxid fixálás szempontjából kulcsenzimként ismert *ribulózbiszzfát-karboxiláz* található. Ezek a prokarióták ugyanis a fényenergia felhasználásával vizet bontva energiát nyernek és oxigént termelnek. A sötét reakcióban viszont az energia felhasználásával széndioxidot kötnek.



### SZÉN-DIOXID MEGKÖTÉS A CIANOBAKTÉRIUMOKBAN

Különleges karboxiszóma található azokban az autotróf prokariótákban, amelyekben a szén-dioxid megkötése a reduktív pentózfoszfát-ciklushoz kötődik. A hexóz-foszfátból folyó pentózfoszfát-képződés, a pentózfoszfát-ciklus és a légzőrendszer működése nem igényel energiát (sötét reakció). A szén-dioxid megkötésének energiaigényes folyamata viszont csak megvilágított sejtben lehetséges.



Tápanyag- és fényhiány esetében, főleg a heterociszták közelében akinéták képződhetnek. Ezek a képződmények a heterocisztáknál nagyobbak és a túlélést szolgálják. Mikroszkóppal szemlélve vastag falukkal és feltűnő granuláltaságukkal tűnnek ki: cianoficint, karotenoidokat, glükogént és lipideket halmoznak fel. Polifoszfát-tartalmuk minimális, viszont jelentős a ribonukleinsav-tartalmuk. Fotoszintetikus kapacitásuk elhanyagolhatóan csekély. Jól bírják a kiszáradást és a fagyasztást. Szigorúan anaerob körülmények között - például tavak üledékében - hosszú ideig életben maradnak.

### A LÉGKÖRI NITROGÉN MEGKÖTÉSE A CIANOBAKTÉRIUMOKBAN

A légköri nitrogén megkötésére külön sejtek, a feltűnően vastag falukról felismerhető heterociszták szolgálnak, amelyekben tilakoid membránrendszer és a vegetatív sejtekre jellemző granulumok nem láthatók. Heterociszták fejlődhetnek a terminális sejtekből, de a vegetatív sejtek közé ékelődve is előfordulhatnak. E sejtek képződését a tápközegben előforduló felhasználható nitrogén-forrás mennyisége szabályozza.

A nitrogénkötő sejtekben található a négy alegységből álló MoFe-tartalmú SH-fehérje, a nitrogenáz enzimkomplex és a két alegységből összetevődő FeS fehérje, amelyik az elektronokat szállítja a *nitrogenáz komplex* működéséhez. A képződő ammóniát egy feltűnően alacsony K<sub>M</sub> értéken (0,1 mM) működő különleges *glutaminszintetáz* nyomban felhasználja, megakadályozandó az egyébként mérgező ammónia sejten belüli feldúsulását. A glutaminszintézishez szükséges glutaminsav a szomszédos vegetatív sejtől származik, és oda távozik a képződő glutamin is, ahol α-ketoglutarátsavval reagálva a sejtfehérje szintéziséhez szükséges glutaminsav képződik. A heterociszták energiaellátását, a glutaminszintézishez és a nitrogenáz enzimkomplex működtetéséhez szükséges ATP

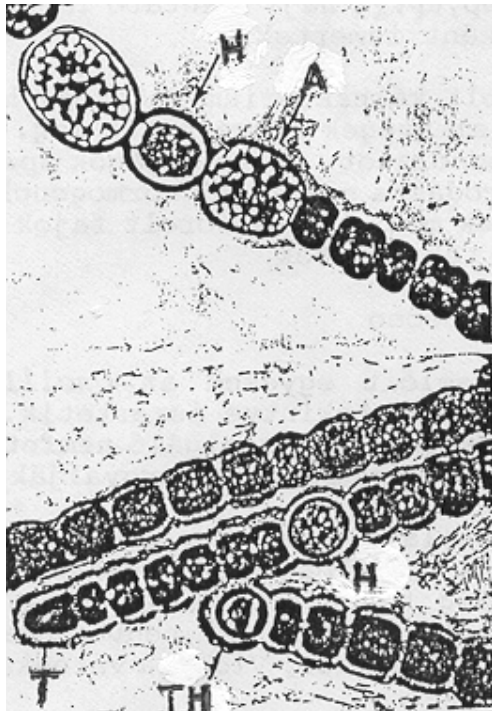
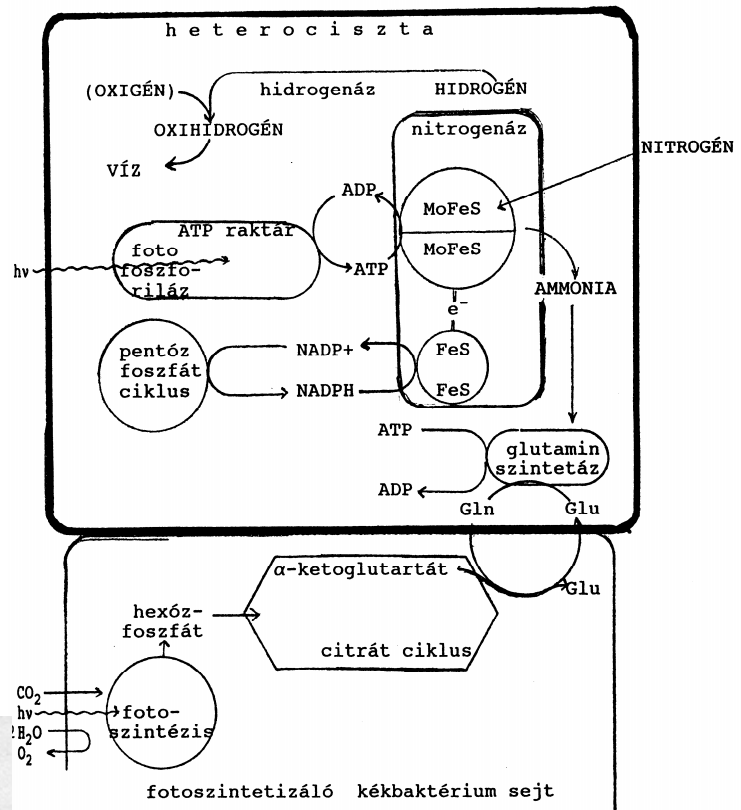
képződését a I. fotofoszfórilációs rendszer működése biztosítja. Ezekben a fajokban a trikarbonsav-ciklus helyett a glioxilát-ciklus működik.

A nitrogénkötéshez szükséges elektronokat a heterocisztákban aktívan működő pentózfoszfát-ciklus első enzimei (G-6-P dehidrogenáz, 6-P-G dehidrogenáz) szolgáltatják.

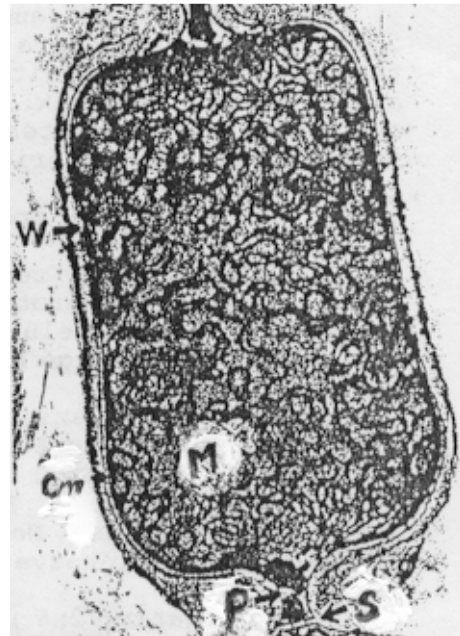
A heterociszták belső redukzív körülményeit fenntartandó, a csekély mennyiségben megjelenő oxigént az acetilénnel gátolható hidrogenáz távolítja el a nitrogeáz által kis mennyiségben termelt hidrogén felhasználásával.

— A nitrogén megkötést végző sejtek aktív tevékenységéhez szükséges szénhidrátot és savakat a szomszédos vegetatív fotoszintetizáló sejtek állítják elő. A heterociszták ennek fejében kielégítik a vegetatív sejtek szerves-nitrogén szükségletét.

*Anabaena cylindrica* heterociszta működése



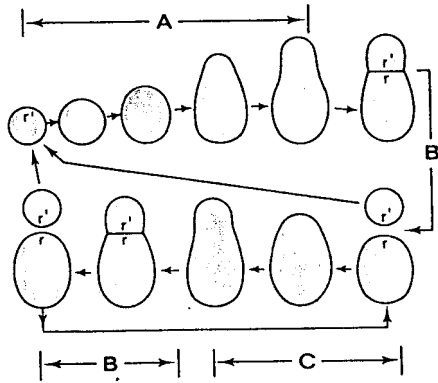
Az *Anabaena* fénymikroszkópos és a heterociszta elektronmikroszkópos képe



- W sejtfa
- M belsőmembrán rendszer
- Cm citoplazmamembrán
- P sejtek közötti pórus
- S szeptum plazmadezmával
- H heterociszta (vastagfalú nitrogén.kötő sejt)
- A akinéta (vékonyfalú, túlélő spórasejt)
- T termináló sejt (trichoma szakasz)
- TH termináló heterociszta

A kékbaktériumok alaki és élettani változatosságát rendszertanilag megkülönböztethető fontosabb csoportjaik képviselőit tanulmányozva ismerhetjük meg.

**CHROOCOCCALES** rendbe a hasadással vagy sarjadzással szaporodó, gömb vagy pálcika alakú, egysejtűeket sorolják. A *Chamaesiphon* nemzetség (χαμαί törpe, σιφεν csövecske) első képviselőjét 1865-ben A. Braun mikrobiológus írta le *Chamaesiphon subglobosus* (*confervicola*) néven. A faj típus törzsét (ATCC 29397) 1963-ban izolálták egy Prága környéki patakból. A törzs 27°C felett beszünteti a növekedését. A reprodukciós folyamat közben az ovoid alakú sejtek megnagyobbodva, apikális végükön bimbózni kezdenek (A-val jelölt növekedési szakasz) majd kokkoid alakban hasadnak le az alapsejtről (B fejlődési szakasz). A leváló sejt növekedve hamarosan eléri a reprodukciós méretet. A szabaddá váló alapsejt pedig újra bimbózni kezd (C-vel jelölt növekedési szakasz).

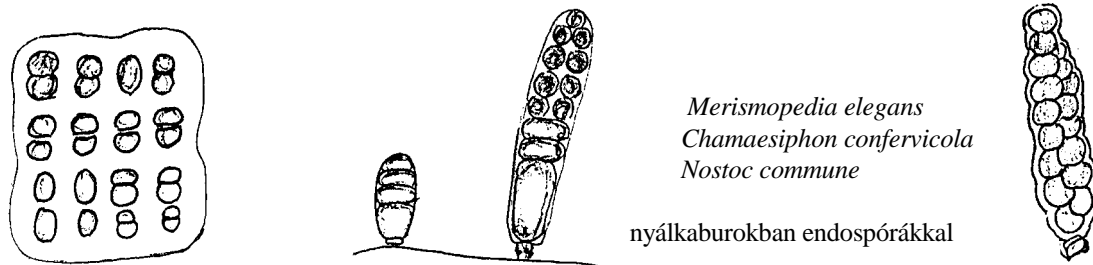


#### *Chamaesiphon* fajok reprodukciója

2:3 arányban. Sejtjeikben a polifoszfát-szemcsék feldúsulása jól megfigyelhető. Fotoszintetikus rendszerük a membránhoz kötődve működik.



*Chroococcus turgidus* telepképzése



nyálkaburokban endospórákkal

Nageli által 1849-ben leírt *Gloeothece* (θηκη doboz) sejtjei osztódás után jól észlelhető tokban együtt maradnak. A *Gloeothece membranacea* törzset ugyan Bornet 1892-ben írta le, de a ma is őrzött neotípus törzset M. M. Allen 1965-ben egy kaliforniai patakból gyűjtötte. Ezek a fajok obligát fotoautotrófok, nitrogénfixálásra aerob körülmények között képesek— de csak sötétben — a raktározott glikogént használva energiaforrásként.

A *Synechocystis* csoport tagjai jól tenyészthetők laboratóriumi körülmények között. Obligát fotoautotrófok. Tengervízből és természetes édesvízből izolálhatók. Nyálkás burok nélkül 2-3 μm méretű gömbök, esetleg párt alkotva fordulnak elő. Szerves eredetű szénforrást általában nem hasznosítanak. Színük a phycoerythrin tartalmuktól függ. A *Merismopedia* nemzetségbe sorolt rokonaik nyálkás lemezekbe rendeződve fordulnak elő.

Nedves talajokban élnek a *Cylindrospermum* fajok. A *C. stagnale* típus törzsét (ATCC 29204) is egy növényház talajából izolálták. Jellemző, hogy közvetlenül a kisméretű heterocisztáik mellett nagyméretű akinéta található. A *Nostoc* fajok többnyire masszív telepeket alkotnak, amelyekből szaporodás céljára néhány sejtből álló hormogoniumok szabadulnak ki. A *Scytonemataceae* család *Scytonema* és *Tolypothrix* fajai hosszabb sejtekből felépülő, elágazó fonalak formájában növekednek. Sötétben fakultatív aerob kemoheterotrófokként a szénhidrátot is hasznosítják. A *Rivulariaceae* családba tartozó fajok laboratóriumi körülmények között is jól tenyészthetők. Az idesorolt 1824-ben leírt *Calothrix* fajok (καλως szép, θριχς haj) a kutató laboratóriumok kedvelt kísérleti alanyaiként ismertek.

A **STIGONEMATALES** rendbe sorolt kékbaktériumfajoknál határozott differenciálódásra utaló jelenségek figyelhetők meg. A sejtek között pórusok segítik a kapcsolatot. Az elágazások speciális alapsejtekből indulnak. A szaporodásra speciális hormogoniumok, többsejtű, mozgékony képletek jelennek meg. Az idesorolt fajok végül is többsejtű kékbaktériumoknak tekinthetők.

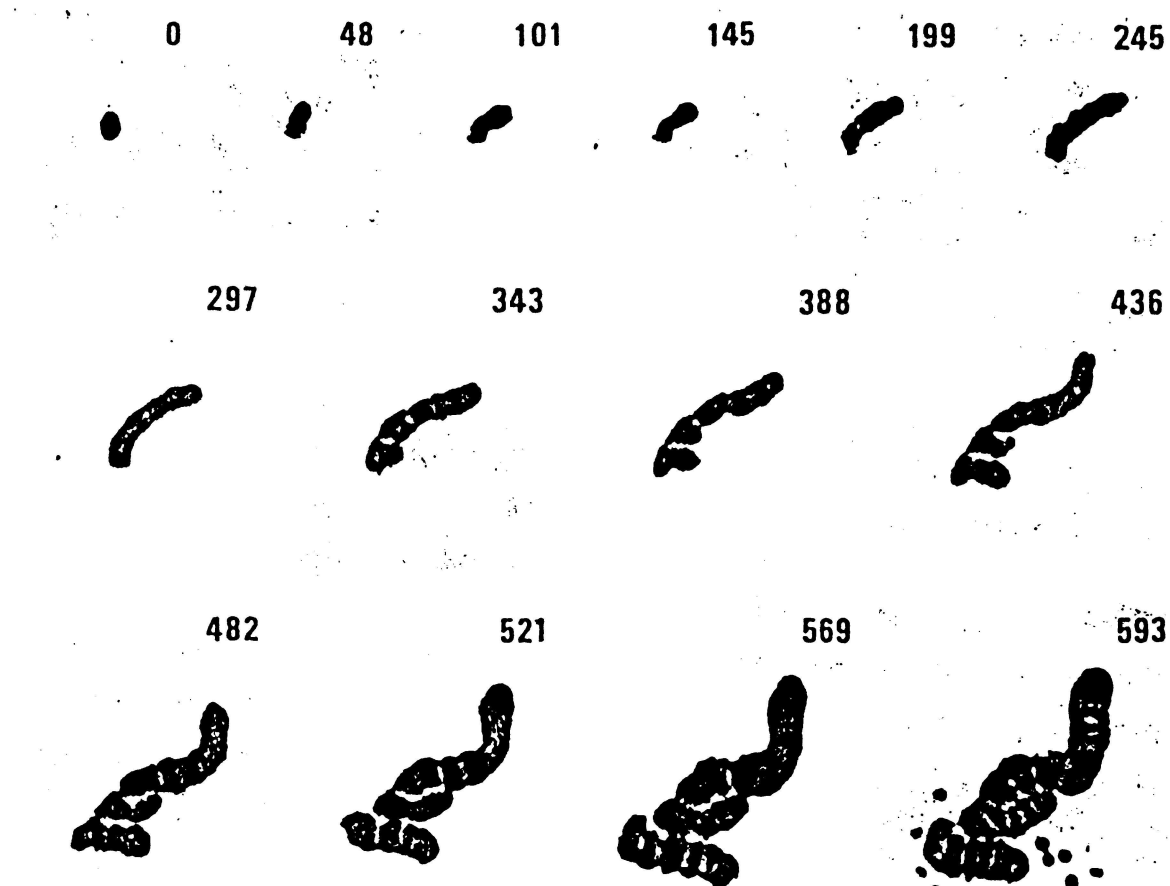
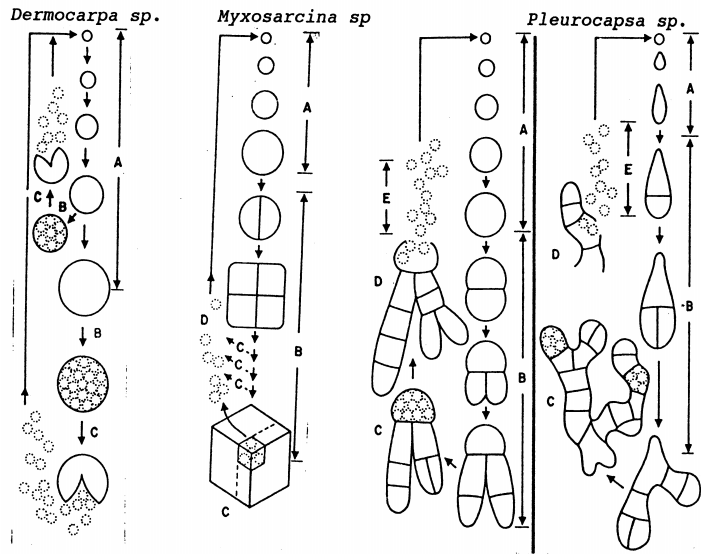
A **PLEUROCAPSALES** rend (πλευρα oldal) tagjai többszörös hasadással hozzák létre a hártás tokban elhelyezkedő sejtjeiket. Ezek a sejtek azután kikerülve a tokból önálló életet kezdve növekedni kezdenek és többszörösen osztódva újabb baeocytá (βαεοκυττα élő) tömeget hoznak létre. Pleurocapsales rend tagjainak fejlődése néhány példán szemléltethető:

- A = baeocytá növekedése
- B = vegetatív növekedés, sejtosztódás
- a = hártás tok képződése a szaporodást szolgáló sejtek védelme céljából
- c = túlélést szolgáló sejtek képződése
- D = a baeocyták kiszabadulása

A **Dermocarpa** (δερμα bőr, καρπωω gyümölcs) és **Xenococcus** (ξενος vendég) fajok esetében a tokban azonos sejtek gyűlnek fel. A **Dermocarpella** esetében viszont nagy méretű alapsejtek mellett található a mozgékony baeocytá sejtek. Az alapsejt újabb baeocytá sejtömeget hoz létre. A kiszabadult mozgékony baeocytá sejtek hosszabb fejlődés után válnak alkalmassá a szaporodásra.

A **Myxosarcina** és a **Chroococidiopsis** fajok kettéosztódással és többszörös hasadással három irányban növekedő sejttelepet alkotnak. A kiszabaduló sejtek azután új telepeket hoznak létre.

A **Pleurocapsa** fajok alapsejtjéből először egymást követő hasadással rövid, több vegetatív sejtől álló, tömzsi fonalak képződnek. Később az alapsejtől többszörös hasadással létrejövő, mozgékony baeocytá sejtek távoznak új telephelyet keresve.



**Pleurocapsa** fejlődése baeocytá-tól baeocytá-ig (a számok a tenyésztés időtartama órában)

**A NOSTOCALES** rend (νοστωεω visszatérő) fajainak kettéosztódással szaporodó sejtjei fonalas, néha elágazó fonalas formában élnek. A környezeti viszonyok alakulásától függően heterociszták és akinéták képződése megfigyelhető. A *Nostocaceae* családba sorolt *Anabaena* fajok (αναβανω növekvő) el nem ágazó fonalakat alkotnak. A fonalak feltöredezésével szaporodnak, és ilyenkor új trichomaszakaszok képződnek, és ezek 1 μm/s sebességgel képesek mozogni. Ezt a képességüket a törzs tisztításakor, homogén tenyészet előállításakor is hasznosítják. Élőhelyükön a plankton főtömegét alkotják. Eutrofizált tavak planktonjának főtömegét összel az *Aphanizomenon* fajok (αφανης rejtett) adják. Feltűnően hosszúak a heterociszták és az akinéta sejtek.

Sok esetben a gazdanövény üregeiben élve találjuk a cianobaktériumokat, ahol nitrogént kötő képességük révén fontos élettani szerepet vállalnak. Nem véletlenül telepítik a mérsékelt égövön rizst termelő gazdaságokban a fagyra érzékeny vizipáfrányok néhány fajtát a rizsföldekre.



(A rizstermesztés őshazájában, a természetes tápanyagutánpótlást végző asszociátum már a történelem előtti időkben kialakult és folyamatosan végzi a biológiai egyensúly kialakítását.)

A vízfelszín ellepő *Azolle filiculoides* sejtüregeiben élő *Anabaena azollae* végzi a nitrogénkötést. Összel beszántva rizsföldjeinken hektáronként 100-150 kg nitrogénnel gazdagodik a talaj tápanyagtartalma.



*A. filiculoides*

**Az OSCILLATORIALES** rend fajai kettéosztódással szaporodó, fonalas alakban elhelyezkedő vegetatív sejtjeiből épülnek fel. A fonalban elhelyezkedő sejtek is képesek osztódni. A fonal csúcán álló sejtek elvékonyodva trichomákat alkotnak. Ezek a szakaszok mozgékonytárgyat kölcsönöznek a fonalaknak, amelyek simák vagy spirális szerveződésűek lehetnek.

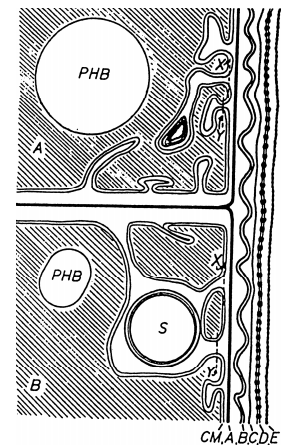
A *Spirulina* fajok édes- és tengervízben ugyanúgy megtalálhatók mint 50 °C-nál melegebb hőforrások vizében. Színük a kékes zöldtől a vörösig változhat.

Az *Arthrospira* fajok bár főleg tengervízben fordulnak elő, de meleg hidrokarbonátos tavak vizében a plankton főtömegét ők alkotják.

A *Pseudoanabaena* vékony fonalakat alkot. A sejtek hossza nagyobb, mint a szélessége. Világszerte előfordul édes- és tengervízben egyaránt. 55 °C felett nem szaporodik. Anaerob körülmények között, szulfidtartalmú üledékes tavakban is megél.

Az *Oscillatoria* fajok édes- és tengervízben valamint hőforrásokban tenyésznek. Fonalaikon mikroszkóppal jól láthatók a válaszfalak. A sejtek sokkal rövidebbek, mint amilyen szélesek. A fonalak 1-10 μm/s sebességgel mozoghatnak. Kékeszöldtől a vörösig változik a színük, de a nagyobb mennyiségben fikocianint és fikoeritrin tartalmazó fajok szinte feketének hatnak.

**A BEGGIATOALES** rend képviselőit egyesek az *Oscillatoria* fajok szintelen heterotróf alakjának tekintve ismertetik. Szaporodási sebességük az *Oscillatoria* fajokhoz hasonló. Egy g iszapban 0.4-0.6 mg *Beggiatoa* sejt található.—Mások a szulfurétum aktív tagjaként, a nemfotoszintetizáló, csúszva mozgó baktériumok heterogén összetételű gyűjtőcsoportjába sorolva tárgyalják ezeket a szintelen fonalakat alkotó szervezeteket, amelyek képesek a vízi üledék felszínén tova haladni. Tartós alakot nem hoznak létre. Nevüket Vicenza városka neves fiziológusára (F.S Beggiato) emlékeztetve nyerték. Gram-negatívan festődő 2x6 μm-es sejtjeik 60-120 μm hosszú fonalakat alkotnak. A sejtburkok felépítése bonyolultabb az eddig megismert törzseknél. A rajz két eltérő körülmények között növekedő *Beggiatobas alba* B15LD törzs tenyészetének elektronmikroszkópos felvétele alapján készült. Az A jelű sejt heterotróf körülmények között fejlődve polihidroxi vajsavat (PHB) halmozott fel., A B jelű sejt szulfidoxidáló körülmények között fejlődött. A sejt falon belül, de a membránon kívül, a mezozszómában kénszemcse (S) kiválása látható. Feltűnően kis méretű a PHB szemcse. A citoplazma membránon kívül a sejt alakját 4-6 nm vastag peptidoglikán (A) sejt fal határozza meg. Ezen kívül 10-12 nm vastag háromrétegű lipopoliszacharidban gazdag réteg (B) látható. A következő kompakt réteg (C) vastagsága 6-8 nm. Ezt újabb három rétegű szerkezet (D) követi amiben 10-12 nm méretű testecskek helyezkednek el egymástól 12-18 nm távolságban. A külső réteg (E) vastagsága 6-7 nm.— A Winogradsky által 1888-ban izolált törzs citokróm rendszere szénmonoxidra érzékeny. Bőséges szulfid ellátás esetén a légköri nitrogén kötésére képes. Olyan tavak fenekén szaporodik el, ahol az iszap kénhidrogén tartalma jelentős. Ilyenkor a membránon kívül kénszemcse halmozódik fel. Kénhidrogén hiányában a felhalmozott kénszemcsek oxidálódnak szulfáttá. Sejtjeikben heterotróf életkörülmények között polihidroxi vajsav mellett polifoszfat is képződik. Katalázuk nincs, ezért az esetleg felszaporodó hidrogénperoxid hatásaként autolízálnak.



CM.A.B.C.D.E

## GRAM-NEGATÍV AEROB KEMOLITOTRÓFOK

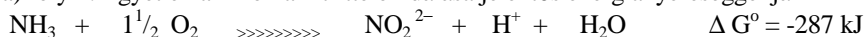
A biogeokémiai folyamatokban résztvevő talajlakó, illetve tengervízben élő, obligát aerob kemolitotrófok közül egyesek mixotróf módon is létezhetnek. Az idesorolt baktériumok között sok az autotróf, azaz képesek a széndioxidot egyedüli szénforrásként hasznosítani a redukzív pentózfoszfát (Benson-Calvin) cikluson keresztül. Ez a rendszer általában karboxi-szómákba kötve működik. A kemolitotróf mikroorganizmusokat célszerű az elektronforrásként szereplő elemek szerint tárgyalni. A nitrifikálók, a hidrogénbaktériumok, a szintelen kénbaktériumok és a fémoxidálók a fennmaradásukhoz szükséges energiát az életterükben előforduló, redukált anorganikus vegyületek biokémiai átalakításával, sok esetben meglehetősen alacsony oxigénszint esetében is aerob légzéssel nyerik. Kivételt képeznek a *Thiobacillus* fajok, amelyek nitrát jelenlétében anaerob légzéssel is képesek kielégíteni az energiaszükségletüket. Anyagcseréjük lassú, a generációs idő egy-két nap. Ezekből a baktériumokból tiszta tenyészet igen nehezen állítható elő. Az egységes szemlélet kialakítása céljából az idesorolt baktériumok a rendszertani csoportok tárgyalásakor, nem kevés esetben bizonyos átfedések miatt más rendszertani csoportokban is tárgyalásra kerülhetnek.

### NITROBACTERACEAE

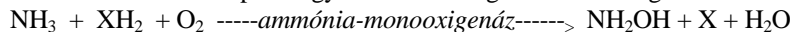
A nitrifikáló baktériumok fakultatív kemolitotrófok, mindenütt előfordulnak, ahol aerob körülmények között szerves anyagok mineralizációja folyik. Talajban, trágyadombon, hulladékgyűjtőben, édes és sós vizekben. Osztályozásuk főleg morfológiai alapon történik. Megjegyzendő, hogy olyan kemolitotróf baktérium, amely a teljes oxidációs folyamatot, az ammónia nitráttá oxidálását egyedül el tudná végezni nem ismert. Kemoorganotróf prokarioták és a gombák viszont képesek erre. — Nitrifikáló baktériumok tenyésztését - kellő szorgalommal - ásványi sókat, előnyösen ammónium-hidrokarbonátot és nitritet tartalmazó táptalajról izolálhatunk. Szilárd táptalajként célszerű szilikagél lemezeket használni. Minden esetben figyelembe kell venni azt, hogy a nitrit toxikus vegyület, ezért a koncentrációja nem növelhető tetszés szerint. Az ásványi sókat tartalmazó táptalajon a generációs idő néhány nap is lehet, de szerves nitrogén és szénforrás jelenlétében a generációs idő általában jelentős mértékben megnő. Elektronmikroszkópos felvételeken jó megfigyelhető az idesorolt baktériumokra jellemző belső membránrendszer, amely sok esetben a protoplazmában megfigyelhető csövecskékbe szerveződik. Szerves nitrogént tartalmazó tápközegben ez a belső membránrendszer alig észlelhető. Az ammónia oxidációjára képes mikrobák tulajdonságait ismerve feltételezhető, hogy az idesorolt fajok távoli rokon kapcsolatban vannak a *Chromatiaceae* és a *Rhodospirillaceae* családokkal.

#### Ammóniaoxidáló nitrozobaktériumok

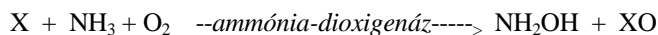
Az ammóniát oxidáló nitrozobaktériumok mindenhol megtalálhatók, ahol szerves anyagok mineralizációja (lebontása) folyik. Egyetlen ammónia nitráttá oxidálása jelentős energianyereséggel jár



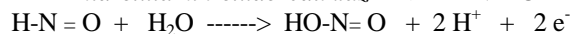
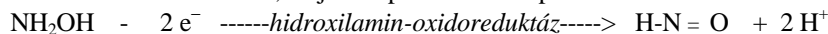
Az ammóniaoxidáció első lépését egy membránban rögzített monooxigenáz



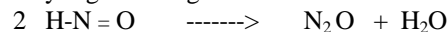
vagy egy dioxigenáz katalizálja



A képződő elektronokat erre a célra alkalmas citokrómszisztéma (citokróm  $c_{554}$ ) gyűjti és hasznosítja. A nitrozobaktériumok a membránhoz kötött nagy mennyiségű citokróm miatt vörös színűek. A reakció előrehaladását — a hidroxilamin képződését — kompetitíven gátolja a szén-monoxid, a metán és a metilalkohol. A gátlás átmeneti jellegű, mert a képződött vegyületek továbbalakításával a rendszer felszabadul a toxikus hatásuk alól. A második lépésben a periplazmában működő 200 kDa méretű hidroxilamin-oxidoreduktáz (21 c-típusú hem és 3 P460) két elektront von el a hidroxilaminról, majd a képződő nitroxil spontán továbbalakul nitráttá:



Az oxigénszint csökkenése jelentős mennyiségű dinitrogénoxid felhalmozódását okozhatja:



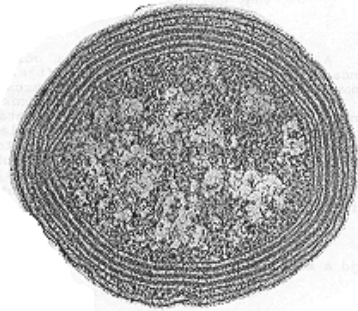
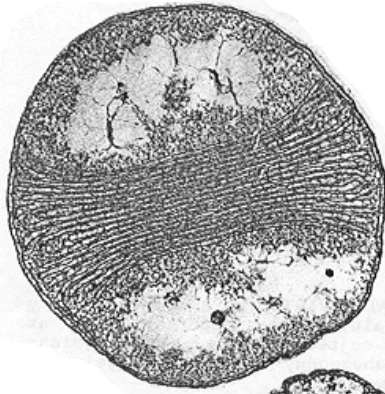
Az acetilén - gátolva az ammónia oxidációját - végeredményben akadályozza a dinitrogénoxid képződését. Megjegyzendő, hogy a kémiai szerkezet hasonlósága miatt az ammóniaoxidálók képesek a metánt is oxidálni, sőt az így nyert  $^{14}\text{C}$  képes szervezetükbe épülni. — A *Nitrosomonas europaea* (ATCC 25978) törzset Winogradsky izolálta 1892-ben. Vastag sejtfallú, poláros ostorral mozgó, az ammóniát nitráttá oxidáló ovális sejtcske. Szerves anyag jelenlétében is jól növekvő baktérium. Oxigénszegény környezetben azonban jelentős mennyiségű dinitrogénoxidot halmoz fel. — Később hasonló biokémiai tulajdonságú, de morfológiailag erősen eltérő szervezeteket izoláltak világszerte. Ilyenek a tengervízben élő, 3-5  $\mu\text{m}$  hosszú, 1,5  $\mu\text{m}$  átmérőjű, ostorral mozgó, *Nitrosococcus mobilis*, a *Nitrosospira briensis* (ATCC 25971) és a *Nitrosolobus multififormis* (ATCC 25196), valamint a talajlakó *Nitrosovibrio tenuis*.

#### Nitritoxidáló nitrobaktériumok

A *Nitrobacter* fajokban két terminális oxidációs lánc található: az egyik a nitritoxidációval összekapcsolva működik, a másik a heterotróf anyagcsere esetében végzi a feladatát. A külső membránjuk A-lipid frakciójában 2,3-diamino-glükóz-hidroxi-mirisztinsav-amidja fordul elő főkomponensként. — A nitritoxidáció számottevő

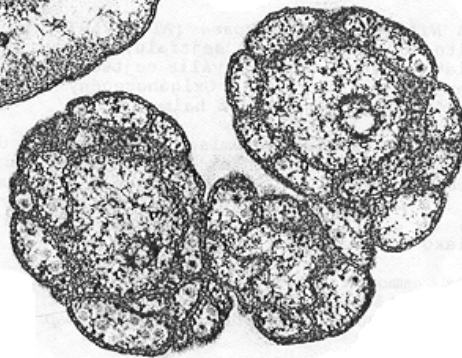


## Nitrifikáló baktériumok elektronmikroszkópos felvétele



*Nitrosococcus mobilis*

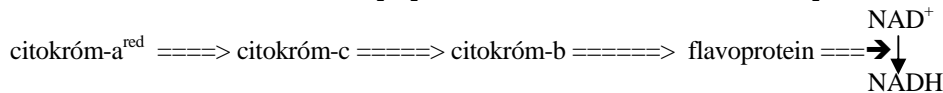
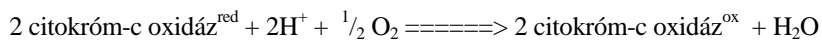
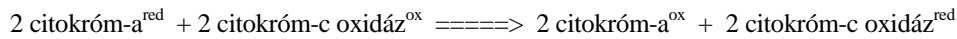
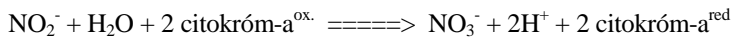
Jól látható sűrű membránrendszer



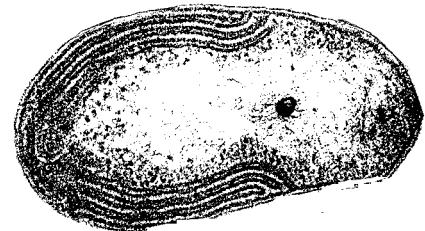
*Nitrosococcus oceanus*

*Nitrobacter multififormis*

A nitritoxidáció speciális elektronakceptora a citokró-m-a. Jellegzetes, többrétegű, fehérjében gazdag membránjukban erre a célra specializálódott elektrontranszport-mechanizmus működik. A nitritoxidálókban az oxidáció közben leválasztott elektronok egyrészt a citokró-mok segítségével az oxidatív foszforilációs mechanizmuson keresztül biztosítják a szükséges ATP-szintet, másrészt segítik a NADH képződését:

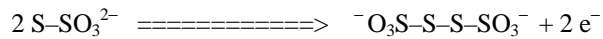


Kemolitotróf anyagcsere-folyamat működésekor ennek a membránfehérjének a mennyisége kiemelkedően magas, nitrát nélküli, illetve szerves nitrogénvegyületet tartalmazó táptalajon viszont gyakorlatilag alig képződik. Kemolitotróf tenyészkörülmények között a sejtekben található karboxiszómákban a *ribulózbiszzfoszfát-karboxiláz* segítségével folyik a széndioxid megkötése. Heterotróf körülmények között növekedő tenyészetben ezek a testecskék általában nem fejlődnek ki. — A *Nitrobacter winogradskyi* (ATCC 25391) talajból izolálható, rövid, mozgékony pálcika. Bimbózva szaporodó egyedeik nitrát nélkül lassan ugyan, de heterotróf körülmények között, acetáton is képesek szaporodni. Amíg kemolitotróf körülmények között 8-14 óra, kemoheterotróf körülmények között 70-100 óra a generációs idő! Ilyenkor természetesen a citoplazmában található, fehérjében gazdag membránszerkezet mennyisége szignifikánsan kevesebb. — A *Nitrospina gracilis* tengervízben élő, vékony, hosszú, obligát kemolitotróf pálcika. Sejtjeikben glikogént halmoznak fel. Szerves anyag jelenlétében a növekedésüket beszüntetik, de a nitrít koncentráció emelkedése is toxikus számukra. — A Csendes-óceánból, az egyenlítő környékéről izolálták az 1-2 ostorral mozgó, sárgászöld színű *Nitrosococcus mobilis*-t. Citoplazmájában a nitrogén-, illetve a széndioxid-megkötés színhelyeként számon tartott membránsövecskék és karboxiszómák láthatók. Ezek között jól láthatóan polihidroxi-vajsav szemcsék halmozódnak fel. A *Nitrospira marina* tengervízben és talajban egyaránt előforduló, helikális küllemű vibroid.



## THIOBACILLACEAE

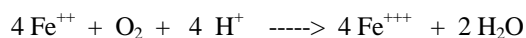
Winogradsky 1890-ben nevezte először "színtelen kénbaktérium"-nak az idesorolt mikroszervezeteket. Aerob körülmények között a kénből kénsavat állítanak elő és ezzel a tenyészközeget savanyítják. Egyes fajaik életműködése pH=0 alatt is változatlan sebességgel folyik. — A prokarioták általában képesek a redukált, illetve részlegesen redukált szerves kénvegyületeket különböző mértékben oxidált terméké alakítva metabolizálni. Elektronakceptorként oxigént, esetleg nitrátot használnak. Az idesorolt baktériumok a tioszulfátot energiaforrásként képesek hasznosítani. Bár a tioszulfát asszimilációja széles körben elterjedt, többnyire azonban a mikroszervezet az így nyert terméket csak szerves kénvegyületeinek felépítéséhez használja. A család minden tagja különböző mértékben redukált kénvegyületek oxidációját végzi szulfáttá. A nitrifikáló baktériumoknál gyorsabban fejlődnek, 4-5 óra generációs idővel. A szén-dioxidot az elektronmikroszkópos felvételen jól látható, vékony membránnal határolt (100 nm) karboxiszómákba szerveződő Calvin-ciklus köti meg. Mozgékony alakjaik poláros ostorral rendelkeznek. — Két csoportban tárgyalhatók. Az egyik csoportba sorolhatóknak szemcsék formájában jelenik meg a kén a baktériumok protoplazmájában. Ezért egyesek színtelen cianobaktériumoknak tartják őket. Ilyenek a *Thiobacterium*, *Macromonas*, *Thiospira*, *Thiovulum* fajok. A másik csoportba sorolt mikrobákban soha sem észlelhető a sejten belül kénkiválás. A széleskörben ismert *Thiobacillus thioparus* (ATCC 8158) törzset Beijerinck izolálta 1904-ben. Semleges körüli pH-nál szaporodnak legjobban, 5 pH-nál a fejlődésük leáll. A típus törzs tioszulfátból légköri oxigént hasznosítva — tetracionáton keresztül — a kén kiválását katalizálja a környezetben. Ez a jelenség jól megfigyelhető tioszulfátot tartalmazó agar táptalajon. Erősen levegőztetett folyékony táptalajban a kénkiválás elmarad:



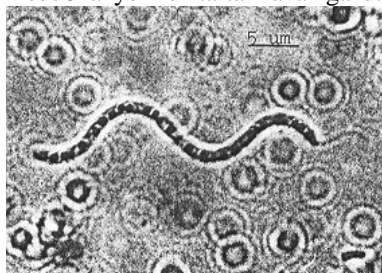
A *Thiobacillus thiooxidans* (ATCC 19377) esetében a kén illetve a tioszulfát oxidációja közben képződő proton a tenyészközeget savanyítja. A törzset Waksman izolálta 1922-ben. Mindenhol előfordul, talajban, édes vagy sós vízben. Először Beijerinck izolálta 1904-ben, tiszta tenyészetét azonban akkor nem sikerült előállítania. Életműködésük kénsav jelenlétében (pH=0) is változatlan sebességgel folyik. Elektronakceptorként a légköri oxigént hasznosítják.

A fakultatív anaerobnak tekinthető *Thiobacillus denitrificans* törzset a *Thioparus*-szal együtt ugyancsak Beijerinck izolálta 1904-ben vékony pálcikaként (0,5-2 μm). Anaerob és aerob körülmények között is képes növekedni. Aerob körülmények között - nitrogénforrásként az ammónia vizes oldatát használva - a kén oxidációjával nyeri az energiát. Anaerob körülmények között a kén oxidációja a jelenlevő nitrát redukációjának a terhére folyhat. Nitrogénforrásként természetesen a tápközegben ez esetben is szükséges az ammónia, mivel a nitrát csak elektronakceptorként szerepel az anaerob anyagcserében.

A *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC 23270) savanyú bányavizekből könnyen izolálható, gyengén mozgó, savtűrő, szigorúan aerob, rövid pálcika (0,5 x 1 μm). Ferroszulfátot tartalmazó minimál agar táptalajon a kisméretű telepek körül vörösbarna gyűrű alakul ki a ferrioxid kiválása miatt. A tápközeg vastartalmának az emelésével fokozható a telepek növekedése. Tenyészetét a pirit oxidációjára is felhasználható. Növekedése szempontjából a pH=1,6-3,5 kémhatású környezet az optimális. Semleges pH-nál a növekedése leáll. Az életben maradásához szükséges energiát a kénhidrogén oxidációjával, vagy a vas oxidációjával nyeri:



Az elemi ként, a tioszulfátot és a tetracionátot is képes oxidálni. Természetesen nitrogénforrásként minden esetben ammónia jelenlétét igényli. Elektront von el a fémionokról, a kupro-iont kupri-ionná, a kétértékű szelén-iont fémszeléné alakítja, de oxidálja az antimont és az uránt is. Glukózt nem képes hasznosítani. Az idesorolt fajok (*Thiomicrospira*, *Thiosphaera*, *Acidophilum*, *Thermothrix* sp.) törzsei a bányászatban alacsony fémtartalmú ércek és meddőhányók fémtartalmának gazdaságos kinyerésére használhatók.



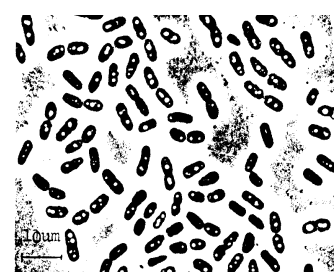
*Thiospira winogradskyi*



*Thermothrix thiopara*  
(kén szemcsékkel)

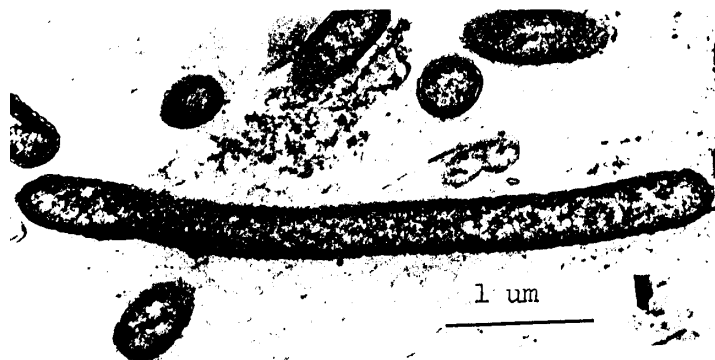


*Thiovulum majus*



*Macromonas bipunctata*

## HYDROGENOBACTERACEAE (HIDROGÉNT OXIDÁLÓ BAKTÉRIUMOK)



*Hydrogenobacter thermophilus*

A hidrogén a mikrobiális metabolizmus közönséges terméke, ezért a hidrogén energiaforrásként, elektrondonorként való hasznosítása is jól ismert a mikrovilágban. A legtöbb hidrogént oxidáló a fakultatív litotrófok, és a kemoorganotrófok között található. — Az egyik legjobban vizsgált, denitrifikálásra is képes hidrogénoxidáló baktérium az *Alcaligenes eutrophus*, amelyben két hidrogenáz, egy citoplazmában működő és egy membránhoz kötött teljesíti feladatát. Ez utóbbi a hidrogénről származó

elektront egy quinon közvetítésével juttatja a citokrómrendszeren keresztül az oxigénre. Ez az elektrontranszportlánc segíti a membránpotenciál kialakulását és az ATP termelést, a citoplazmikus enzim pedig a redukált kofaktor (NADH) ellátást szolgálja. — A kénbaktériumok között gyakran található obligát kemolitotrófok, amelyek széndioxidból építik fel szervezetüket. Külön kiemelendők a kemoautotróf, aerob *Desulfonema* nemzetség fonalas felépítésű fajai, amelyek megfelelő felületen csupán széndioxidból és hidrogénből képesek felépíteni a telepüket. A növekedésüket serkenti az acetát, de hosszú és rövid zsírsavak ugyancsak elektrondonorként szolgálhatnak. A membránjukban megtalálható a citokróm-c és a citokróm-b. Táptalajba szuszpendálva nem tenyészthetők csak a táptalaj felületén növekednek, mivel a gázfelvétel növekedést limitáló faktor! — Hőtűrésük miatt érdemelnek figyelmet azok a hőforrásokból izolálható, aerob, obligát kemolitotrófok, amelyek a molekuláris hidrogént energiaforrásként, elektrondonorként, a széndioxidot pedig szénforrásként hasznosítják. Nitrogénforrásként ammóniát, illetve nitrátot igényelnek. A növekedésükhöz előnyös a 75 % hidrogént, 15 % széndioxidot és 5 % oxigént tartalmazó atmoszféra. A szén-monoxid felszaporodása esetén (90 % szén-monoxid, 5 % széndioxid, 5 % oxigén) a növekedésük leáll. Membránhoz kötött hidrogenáz aktivitásuk sejtmentes kivonatban is működőképes marad. Az elektrontranszportláncuk különleges tagja a 2-metiltio-3-tetrahydro-(6,7)-multiprenil-1,4-naftokinon (metionaquinon). Típustörzsüket (*Hydrogenobacter thermophilus*) 1984-ben Kawasumi és társai izolálták. A törzs 65°C-on 85 % H<sub>2</sub>, 5 % O<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub> összetételű gáztérben jól tenyészthető nikkel- és vas-ionok jelenlétében csupán szervesetlen anyagokat tartalmazó szilikagél lemezen.

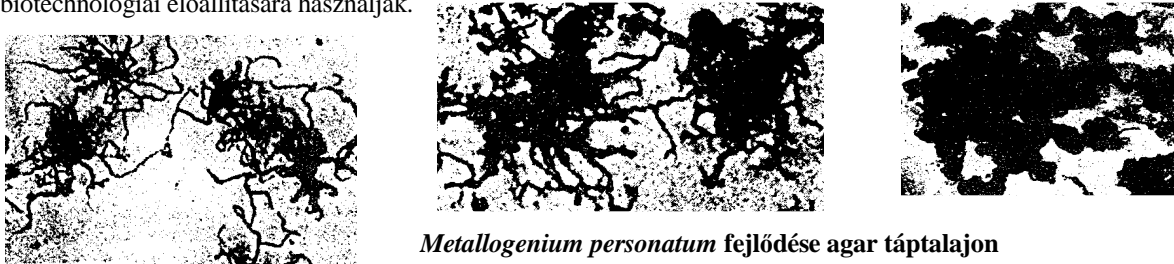
## SIDEROCAPSACEAE Vas és Mangánoxidáló baktériumok

A család tagjai bimbózza osztódó, tokos, aerob, illetve mikroaerofil baktériumok. Nevük a görög σιδηρεος vas szóból származik. Energianyerés céljából vasat, illetve mangánt oxidálnak. E családhoz tartozó baktériumok életműködése hozta létre a vas-, illetve mangánérctelepek egy részét. — Tiszta tenyészetüket nehéz előállítani, mert főleg algák, vízi növények közelében, velük laza életközösségben élnek. Nagy mennyiségben fordulnak elő az aerob epilimnionban, de fellelhetők a tavak fenekén, az anaerob hypolimnion tagjaiként is. Természetes élőhelyükön a tokanyagban nagy mennyiségben halmozódik fel a vas-oxid, illetve mangán-oxid, amitől a vörösbarna, illetve olajzöld színük származik. Kisméretű sejtjeik átmérője alig éri el az 1 μm-t, ugyanakkor a tokjuk elérheti a 10-50 μm méretet is. Ezért egyesek a *Siderocapsa eusphaera* helyett az *Arthrobacter siderocapsulatus* elnevezést javasolják. A tok vasoxid-tartalma oxálsavval, vagy egyszerűen sósavval könnyen eltávolítható.

Különleges csoportot képviselnek a mágneses térre érzékeny baktériumok. Alig húsz éve figyeltek fel arra, hogy egyes Gram-negatív, ostorral mozgó, obligát mikroaerofil kemoheterotróf szervezetek haladási irányát a mágneses tér változtatásával befolyásolni lehet. A prokarioták különleges, de heterogén csoportját soroljuk ide. Közös bennük a mágneses térre való érzékenységük és a vasfelhalmozódás, amit az elektronmikroszkópos felvételeken jól látható magnetoszómák, láncszerűen elhelyezkedő, magnetitet tartalmazó képletek megjelenése jellemez. Joggal feltételezhető, hogy magnetikus reakciót nem mutató rokonaik nagy számban élnek a talajban és vizekben.

Az axenikusan tenyészthető, nitrogénfixálásra képes, kemoheterotróf *Aquaspirillum magnetotacticum* mikroaerofil spirillumot 1981-ben izolálta először Blakemore egy víztisztító üzem medencéjéből. *Ochrobium*-hoz hasonló, kokkoid alakú, ostorral mozgó *Bilophococcus magnetotacticus* egy víztároló üledékéből származik.

A *Metallogenium nemzetség* fajai az eddigiektől elkülönítve tárgyalandók. A 0,5 μm méretű bimbózó kokkuszból összeálló, akár 10 μm hosszúságú fonalakba rendeződő mikrokolóniáikban mangán-dioxid rakódik le. A *Metallogenium* fajok baktériumok, mycoplasmák, gombák, algák parazitáiként ismertek. Önállóan, tiszta kultúrában nem sikerül fenntartani őket, csak biner kultúrában tenyészthetők. Növekedésükhöz a mangán esszenciális. A metallogeniummal fertőzött gomba mangán nélkül tenyésztve számtalanszor tünetmentesen átoltható és a fertőzöttsége csak a tápközeghez adott mangánsóval hívható elő. A parazita elszaporodva végül is a megtámadott sejtek lízisét okozhatja. *Metallogenium*-fertőzés előhívására más fémek, például thallium-acetát is alkalmazható. A biner kultúrákat különböző ásványi (rodonit, olivin, biotit, magnetit, piroluzit) előfordulásokból a fémoxidok biotechnológiai előállítására használják.



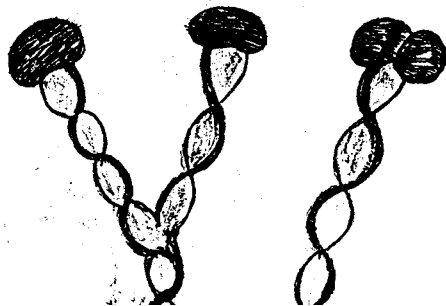
*Metallogenium personatum* fejlődése agar táptalajon

### FÉMKIVÁLÁST OKOZÓ PROKARIÓTÁK

A fémek kiválását okozó prokarioták említése itt rendszertanilag nem indokolt, mégis a természetről alkotott képünk bővítése megkívánja néhány képviselőjük tárgyalását. Ezek a baktériumok jóllehet oxidálják a vas- és mangán-ionokat, de autotróf módon, egyedüli elektronforrásként nem hasznosítják ezeket a fém ionokat. Az azonban kétségtelen, hogy ott élnek, ahol a vas- és mangánszint az átlagosnál nagyobb. — A *Naumanniella* fajok neve Einar Naumann svéd limnológusra emlékezteti a természetkutatót. Pálcika alakjuk miatt egyesek *Blastobacter*-ként írták le őket. Az *Ochrobium* (αχρρα sárga, βιος élet) fajok mozgékony pálcikák, amelyeknek a sárgás áttetsző tokja a flagellum helyén nyitott és ezért mikroszkópon lópatkószerű alakot mutat a sárga tok. A *Siderococcus sp.* apró (0,2-0,5 μm), bimbózással szaporodó sejtjei nem alakítanak tokot, de a környezetükben nagy mennyiségű ferrihidroxid csapódik ki. A sejteket fonalszerű képlet rögzíti egymáshoz és az aljathoz, így láncszerűen találjuk őket természetes élőhelyükön.

Fémkiválasztás szempontjából gyakorlati jelentőségű a hüvelyes baktériumok fémoxidáló aktivitása. Ezek az aerob Gram-negatív pálcák egyedileg mozgékonyak. Nagy tömegben, főleg természetes vizeink aljzatához tapadva, fonalas elrendeződésben fordulnak elő. Fonalaikat hüvely veszi körül, amelyben főleg vas-oxid halmozódik fel. Forrásokban, bányákban jól látható rozsdás bevonatot adnak. Szennyezett vizeinkben nagy mértékben elszaporodhatnak. Mivel a fém oxidációja nem ad elegendő energiát, ezért szívesen használják fel a szennyvizeink szerves szénforrását is. — A cukorgyárak elfolyó szennyvizében nagy mennyiségben fordul elő a *Sphaerotilus natans* és a *Sphaerotilus discophorus*. Heteropoliszacharid hüvelyt választanak ki maguk köré, ami a természetes élőhelyükön jellegzetes fonalas megjelenési formát okoz. Agar táptalajon, annak összetételétől függően, bőséges tápanyagellátottság esetén sokszor egyedi sejtekből álló fényes telepet alkotnak, majd e telepekből később a

tápanyagellátás csökkenésével fonalas alakban elhelyezkedő nyúlványok indulnak fejlődésnek. A sejtekben tartalék tápanyagként poliszacharid és polihidroxi-vajsav, a hüvelyben pedig ferri-oxid gyúlik fel. — Az enyhén savanyú kémhatású, ferro-hidroxidot tartalmazó vizeinkben nagy mennyiségben fordul elő a *Leptothrix ochracea*, másnéven okkerbaktérium. Természetes élőhelyén a felhasználható szerves anyag általában csekély, viszont jelentős mennyiségű a savanyú oldatban levő redukált vas. Winogradsky már 1888-ban felfigyelt a faj vasoxidáló tulajdonságára. Úgy vélte, hogy a biológiai folyamatban képződő ferri-hidroxid a baktérium hüvelyében vasoxid-szemcséket alkotva csapódik ki. Mangánsók jelenlétében mangándioxid-szemcsék rakódnak le a baktérium hialin hüvelyében. Egy idő után a baktérium elhagyja a fémoxidokkal terhelt hüvelyét és új hüvelyt fejleszt, amiben újra megindul a fémoxid kiválasztása. Egyértelműen nem sikerült igazolni a vasoxidációban a mikroba litotrófiáját, mert a tenyésztési körülmények az oxigénellátottság és a pH-viszonyok a vashidroxid spontán oxidációját is okozhatja, a hüvely pedig a kristályosodáshoz adhat megfelelő miliót. Vasoxidkiválasztást tapasztaltak még a *Phragmidiothrix*, *Crenothrix* és *Clonothrix* fajok hüvelyében. — Vasoxid-lerakódást figyelhetünk meg a különböző függelékes Gram-negatív baktériumok rögzítő képleteiben. Így például a *Gaillonella* fajok, amelyeknek a nevét egy neves Dieppe-i zoológusról (B. Gaillon 1782-1839) eredeztetik (Ehrenberg 1838), nagy mennyiségű vas-oxidot halmoznak fel. Tiszta tenyészetüket ez ideig nem sikerült előállítani. A *Gaillonella* fajok bab alakú sejtjei vas-oxidot tartalmazó, megcsavart szalagok végein ülnek. Hasadással osztódva, mindegyik sejt újabb szalagot választ ki. Az osztódó sejt nem mindig azonos, lehet ostorral mozgó is, amely új helyet keresve és találva elkezd a fonalképzést. Vízfolyásokban tavasszal mindenütt előfordulnak. Olyan nagy tömegben képesek elszaporodni, hogy a városi vízvezetékrendszerben dugulást okozhatnak. A kemolitoautotróf *Gaillonella* szén-dioxidot köt, a vasiont (esetleg mangánt) pedig elektronodonorként hasznosítja. A mikroaerofil *Gaillonella ferruginea* 1 g száraz sejtre vonatkoztatva naponta 150 g ferro-iont képes oxidálni. (1  $\mu\text{m}$  rögzítő szalag  $4 \times 10 \mu\text{g}$  ferri-iont tartalmaz.) — Természetesen nem minden függelékes faj halmoz fel fémoxidot a rögzítő alépítményében. A kemoorganotróf *Nevskia*, amelynek típus törzsét a Néva folyóból izolálta Famintzin 1892-ben, borszerű bevonatot alkotva mindenfelé előfordul a víztartályok, vízfolyások, mocsarak arra alkalmas szilárd felületén. A *Nevskia ramosa* sejtjei elágazó ágacskák végein ülnek. Osztódás után mindegyik sejt önállóan fejleszti a rögzítő alépítményét. Minden elágazás a populációban végbement egy-egy sejtosztódás emléke. Az utódok közül egyesek ostorral rendelkezve keresik a megtelepedésre alkalmas új élőhelyüket.



*Gaillonella*



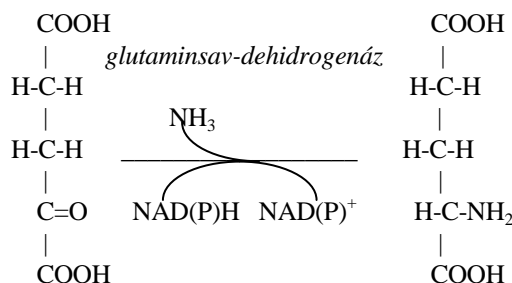
*Nevskia*

## MIKROVILÁG ÉS A NITROGÉN

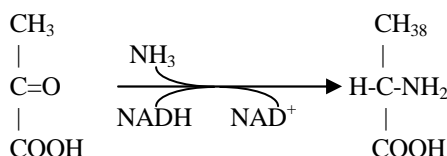
Nitrogén az élő szervezet számára nélkülözhetetlen, biogén elem. A fehérje tömegének 10-15 %-át teszi ki. Az élő és élettelen világ közötti szüntelen körforgását a mikrovilág katalizálja. Legnagyobb mennyiségben a légkör kevésbé reakcióképes alkotóelemeiként, szintelen, szagtalan gázként fordul elő. (Megjegyzendő: a hármas kötés (:N:::N:) disszociációs energiája 940 kJ, míg az oxigén disszociációs energiája csak 493 kJ !) Kisebb mennyiségben a légkörben abiogén eredetű vegyületei (NO, N<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub>) is megtalálhatók. Az élettelen környezetben anionként főleg nitrát, kationként pedig ammóniumsó formájában fordul elő. Szerves kötésben - az élő szervezet építőelemeiként - a fehérjékben, nukleotidokban és a nukleinsavakban található. A növényvilág és a mikrovilág a nitrogént általában mindkét só formájában, kationként és anionként is fel tudja venni. Ezen túlmenően a mikroorganizmusok a légköri nitrogén megkötésére is képesek és ezzel a tevékenységükkel a földfelszínen évmilliárdokkal ezelőtt az élet lehetőségét teremtették meg. Századunkban az emberiség a műtrágyagyártás megindításával beavatkozott a természet évmilliárdok alatt kimunkált rendjébe, megzavarta a nitrogénciklus kiegyensúlyozott működését. A szerveskötött nitrogén mineralizációján kívül az elnitrátosodott környezet denitrifikálása is a mikrovilág feladata.

### AZ AMMÓNIA ASSZIMILÁCIÓJA

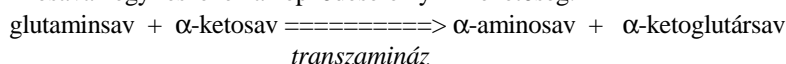
Az élő szervezet környezetében levő ammónia asszimilációját leginkább a megfelelő redukált kofaktort igénylő glutaminsav-dehidrogenáz segíti. Ez a reverzibilisen működő enzim adott esetben az ammónia kiválasztását is katalizálhatja:



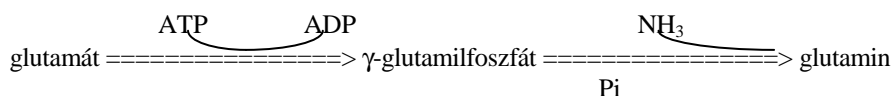
Az α-ketoglutársav helyett némely esetben a piroszőlősav is képes redukzív módon ammóniát felvenni az alanin-dehidrogenáz segítségével:



A fenti két aminosavból ezután transzamináz katalizálta reakcióval a szervezet növekedéséhez, a fehérjeszintézishez szükséges aminosavak egy részének a képződésére nyílik lehetőség.



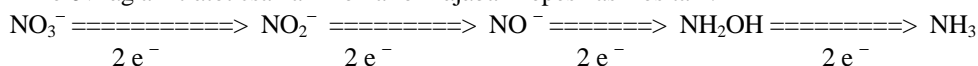
Az ammónia biológiai hasznosításának másik útja a glutaminsav amidálása, amit a *glutamin-szintetáz* enzimkomplex végez:



Az ATP felhasználásával képződő glutamin, mint könnyen hasznosítható aminodonor vesz részt a köztes nitrogén-anyagcserében, aminosavak, nukleotidok és az aminocukor bioszintézisében. A glutamin-szintetáz szerepe a légköri nitrogén megkötésében is nélkülözhetetlen. Maga az enzimkomplex fontos szabályozó szerepet tölt be. A 12 alegységből felépülő enzimkomplex működését alloszterikusan, sokoldalúan (multivalens módon) szabályozzák azok a vegyületek, amelyeknek a bioszintézise glutamint igényel. A *glutamin-szintetáz* adenilezhető 12 alegységét allosztérikusan, specifikusan gátolhatja az AMP, a CTP, a GMP, a NAD<sup>+</sup>, a triptofán, a hisztidin, az aszparagin, a karbamil-foszfát, a glicin, az alanin, a glükózamin-6-foszfát és a p-amino-benzoésav. A multivalensen gátolt komplex végül tirozil- oldalláncainak adenilezésével inaktív formát vesz fel, amely csekély aktivitást mutat. Szükség esetén az adenilcsoportok enzimkatalizálta lemozdításával a komplex újra aktív formába kerül majd megindítja a glutamin-szintézist

### A NITRÁT-ASSZIMILÁCIÓJA

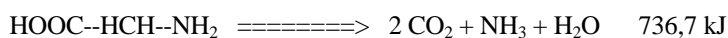
Az élővilág a nitrátot csak ammónia formájában képes hasznosítani.



Az asszimilációs folyamat első lépését FAD-ot és molibdént tartalmazó fehérje katalizálja. A redukcióhoz NADPH hozza az elektronokat. Az első redukciós termék a nitrit, amely ezt követően két elektron felvételével nitrogénoxidá, tovább redukálódva hidroxilaminná, majd újabb két elektron, összesen tehát nyolc elektron felvételével a nitrát ammóniává redukálódik. A redukciós folyamat nagy energiaigénye miatt itt is jól működő szabályozási mechanizmus védi a mikroba érdekeit. Aerob körülmények között, könnyen hasznosítható nitrogénforrás jelenlétében a nitrátot redukáló enzimszisztéma ki sem fejlődik. A nitrátasszimilációra képes szervezetek a tápközegből először az ammóniát veszik fel és csak ennek elfogyasztása után térnek a nitrát hasznosítására. Ez az út nem tévesztendő össze a nitrátlégzés redukciós lépéseivel, amikor a nitrát csupán elektronakceptorként szerepel a terminális oxidáció folyamatában. A prokarioták sok esetben képesek anaerob körülmények között nitrátlégzésre, de nitrogénforrásként csupán nitrátot tartalmazó táptalajon NADPH hiány esetében nem képesek növekedni.

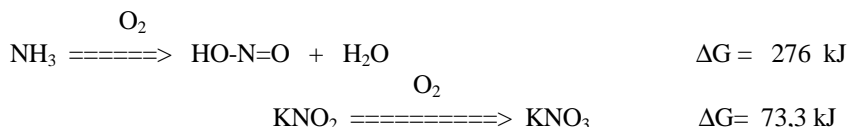
### Az AMMONIFIKÁCIÓ

Ammonifikációnak nevezve foglалható össze a szerves anyagot lebontó szaprofita mikrobák tevékenysége, a fehérjék és más nitrogént tartalmazó szerves vegyületek mineralizációja. Ezek a mikrobák elsősorban saját szervezetük felépítését végezve hasznosítják az életterükben található szerves anyagot és csak a feleslegben képződő ammóniát választják ki a környezetbe.



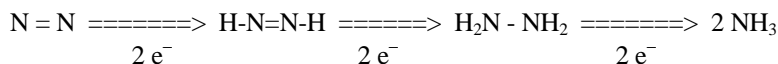
### A NITRIFIKÁCIÓ

Az ammónia energetikailag előnyös oxidációját nitrifikáló baktériumok végzik. A *Nitroso-* fajok (*Nitrosomonas spp.*, *Nitrosococcus spp.*) az ammóniát a szervezet számára toxikus nitritté oxidálják. Ennek továbbalakítását *Nitro-* fajok (*Nitrobacter spp.*) végzik



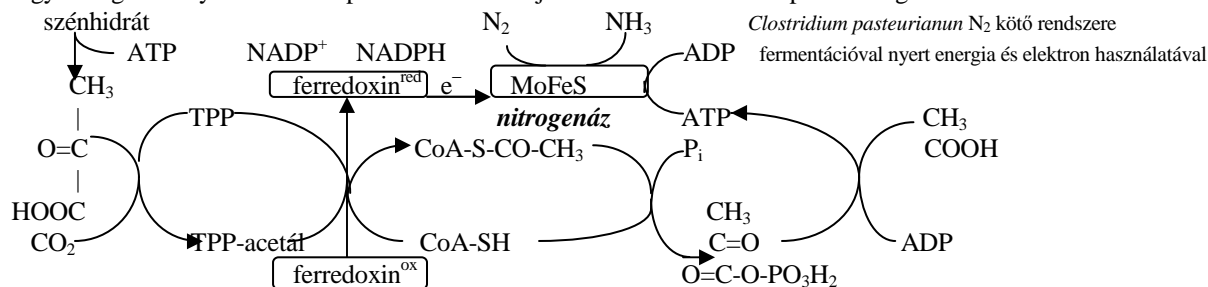
A képződő negatív töltésű nitrátionok a csapadékkal a talaj mélyebb rétegeibe vándorolva szennyezik a talajvizet. A fel nem használt műtrágya maradéka is itt halmozódik fel. A talajvíz elnitrátosodása a fogyasztásra alkalmas vízkészleteink mennyiségét drámaian csökkenti.

**A NITROGÉNKÖTÉS** az élővilág fennmaradása szempontjából fontos szerepet tölt be a prokarioták nitrogénáz enzimkomplexe, amely a légköri nitrogén megkötésére képes (N-ből NH<sub>3</sub> képződik). Ez a molibdén tartalmú enzimkomplex megfelelő elektrondonor és bőséges ATP-ellátás esetén anaerob körülmények között végzi redukzív feladatát:

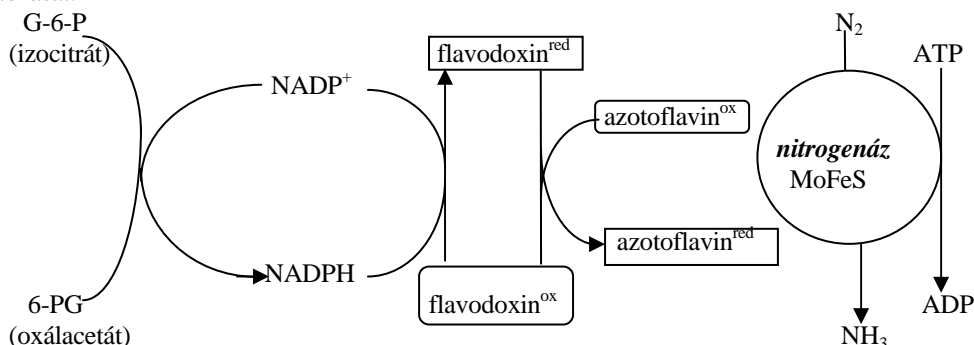


A fakultatív anaerob *Klebsiella*, illetve a *Rhizobium* aerob körülmények között nem köt nitrogént, ezért csak asszimilálható nitrogénforrást tartalmazó táptalajon tenyészhet. Az oxigénre különlegesen érzékeny N-kötő enzimkomplexeket különböző aerob, anaerob, és fakultatív anaerob prokariotákból izolálták. Az *Azotobacter vinelandii*, *Bacillus polymyxa*, *Clostridium pasteurianum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Rhizobium sp.*, a fototróf baktériumok és a Cianobaktériumok (kékeszöld algák) különböző képviselőiből nyert enzimkészítményekben és sejtmentes kivonatokban működő nitrogénázokat hasonló felépítésűnek találták. — Minden esetben a nitrogén több lépést igénylő redukciója egy több alegységből felépített molibdént és vasat tartalmazó fehérjén következik be.

Az obligát anaerob *Clostridium pasteurianum* nitrogénkötő rendszere fermentációs úton nyert energia és elektron felhasználásával működik. Az anaerob erjedéssel képződött piruvát több lépésen keresztül ecetsavvá alakul, miközben a TPP-acetát, az acetyl-CoA és az energiagazdag acetylfoszfát őrzi a dekarboxilezés energiatartalmát. Ennek az energiának egy része használódik fel a ferredoxin redukciójára, ami azután a nitrogénáz felületén az aktivált nitrogénmolekula teljes redukcióját biztosítja. A redukcióhoz szükséges energiát az acetylfoszfát bomlásakor képződő ATP közvetíti. Elektrondonor (ez esetben a piruvát) jelenlétében ez a rendszer olyan aktívan működik, hogy nitrogén hiányában - mivel proton mindenhol jelen van - az enzimkomplex hidrogént termel.



Az aerob *Azotobacter vinelandii* nitrogénkötő rendszere számára a redukcióhoz szükséges elektronok a szénforrás teljes elégetése közben jelennek meg NADPH formájában. Az ATP pedig az oxidatív foszforilálás terméke. Az *Azotobacter* fajok membránjának igen erős légző aktivitása akadályozza a sejten belüli redoxpotenciál kedvezőtlen irányú változását.



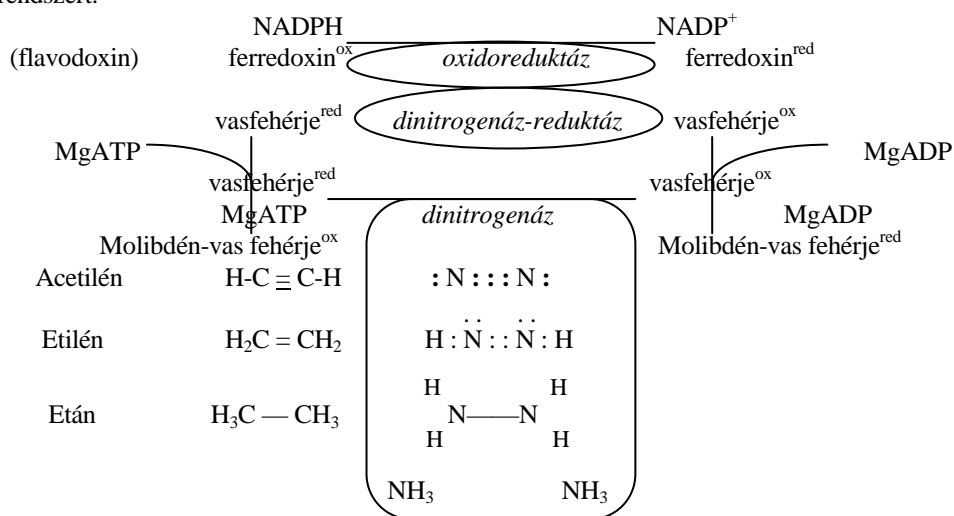
Az aerob körülmények között élő *Azotobacter vinelandii* esetében a négy vasat és nyolc ként tartalmazó, hőlabilis, oxigénre érzéketlen flavodoxin redukciójához szükséges elektronokat a NADPH szállítja. Az elektron végül is a hőérzékeny flavodoxinról az azotoflavinon keresztül jut el a molibdoproteinen redukálódó nitrogénre.

A *Rhizobium* törzsek esetében a bakteroidok körül feldúsuló leghemoglobin köti meg az odakerülő oxigént. A *Cyanobacterium* fajoknál egyrészt a nitrogénkötő sejtek különlegesen vastag fala, másrészt a heterociszták hidrogenáz aktivitása védi a nitrogénáz rendszert az oxigén káros hatásától. Ez utóbbi említett enzim a nitrogénkötés közben képződő hidrogénnel a bejutó oxigént vízzé redukálja. Valamennyi hidrogéngáz egyébként minden esetben, tehát nitrogén jelenlétében is képződik. (Az USA szójatermő területein a nitrogénfixálás melléktermékeként évente 2 millió tonna hidrogén képződik.)

A nitrogénkötés fölöttébb energiaigényes folyamat (20-30 ATP és háromszor két elektron szükséges egy nitrogénmolekula megkötéséhez). Ezt az energiát a mikroba vagy a környezetből szerzi (pl. fényenergia) vagy a saját köztes anyagcseréje szolgáltatja ATP formájában. A *Rhizobium* esetében a 220 kDa méretű, négy alegységből felépülő fehérje 24 vasatomot tartalmaz. Ehhez kötődik a kisebb méretű, két molibdénatomot tartalmazó, molibdoferredoxinnak nevezett fehérje. A reakcióhoz szükséges elektronokat a két alegységből álló, négy vasatomot tartalmazó, azoferredoxinnak nevezett dimer szállítja. A nitrogénáz enzimkomplex mindkét tagja - a dinitrogenáz és a dinitrogenáz-reduktáz - SH-csoportokat tartalmaz, ami nemcsak a redukív körülmények fenntartásának kedvez, de a komplex oxigénérzékenységét is indokolja. Az egyes mikrobák esetében az enzimkomplex körüli tér oxigénmentességét különleges szerkezeti elemek, illetve a célnak megfelelő enzimek működése biztosítja.

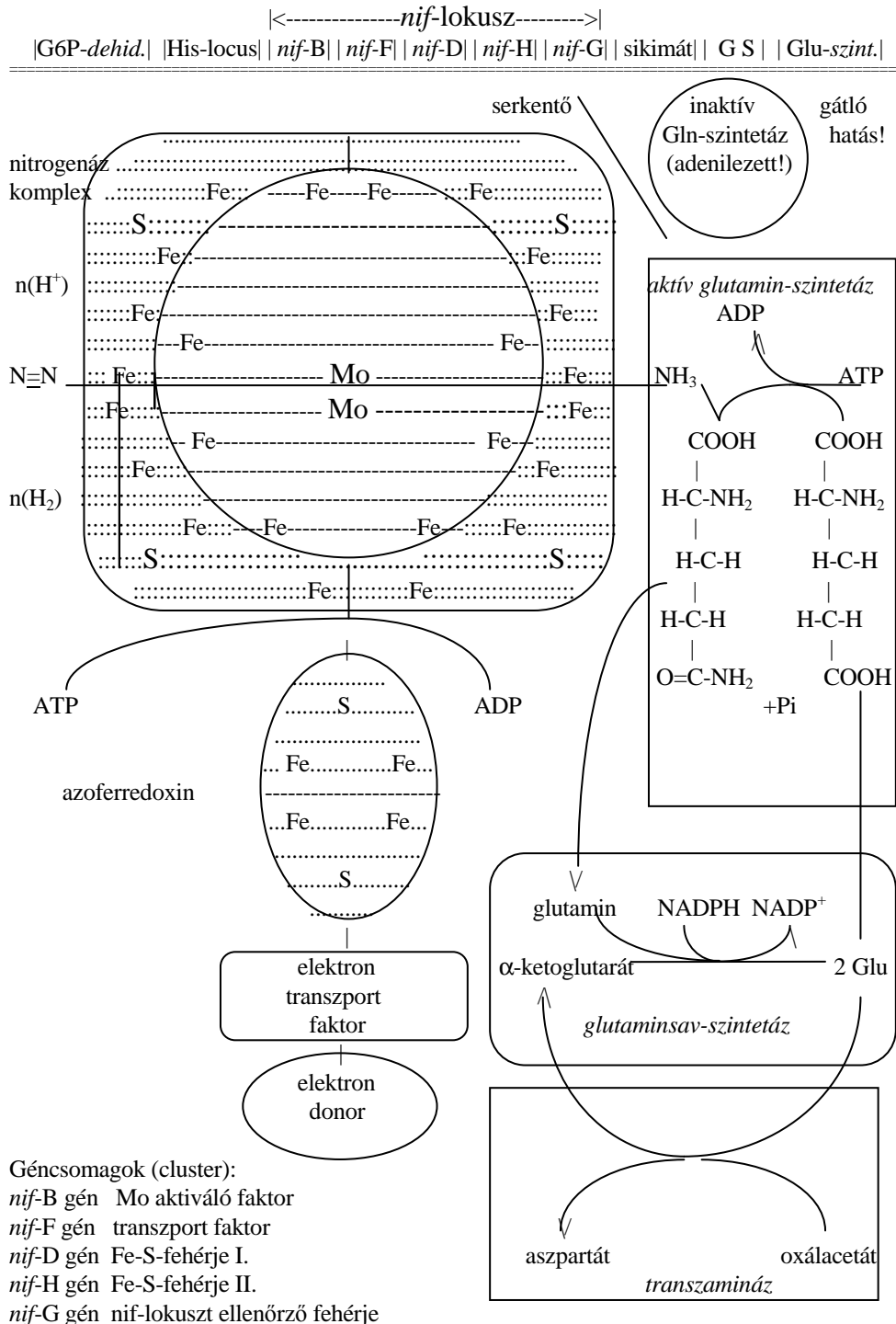
### A NITROGENÁZ-RENDSZER MŰKÖDÉSE

A szénforrás dehidrogénezésével vagy a fényenergia hasznosításával nyerhető, redukált kofaktorok táplálják a rendszert.



A nitrogénáz aktív centrumában mint nitrogénanalóg, az acetilén is képes redukálódni. A képződő etilén gázkromatográffal egyszerűen mérhető; ezért a nitrogénáz aktivitás laboratóriumi mérésére kiterjedten használják az acetilént szubsztrátumként.

A nitrogénáz aktív centrumában képződő ammónia eltávolításáról ezekben a mikrobákban egy különleges glutaminszintetáz gondoskodik, amely igen csekély ammóniaszint esetében is működőképes ( $K_M=0,2$  mM). A képződő ammónia folyamatos eltávolítása azért szükséges, mert egyrészt represszálja a nitrogénkötésben szereplő enzimek képződését, másrészt mint általános sejtmérge is károsíthatja az élő sejtet. Megjegyzendő, hogy az élővilágban általánosan előforduló glutaminszintetáz egy nagyságrenddel nagyobb koncentráció jelenlétében ( $K_M = 1,5-3$  mM) működik kielégítő aktivitással. A rendszer működése folytonos  $\alpha$ -ketoglutarát ellátást igényel! A különleges szintetáz terméke, a glutamin egy különleges, vas-flavoproteint tartalmazó, NADPH-függő redukív aminosav (glutamát-szintetáz) hatására  $\alpha$ -ketoglutaráttal reagálva glutaminsavvá alakul. Az így képződő glutaminsav azután aminosav-csoport-donorként részt vesz a sejt életműködéséhez szükséges aminosavak szintézisében.

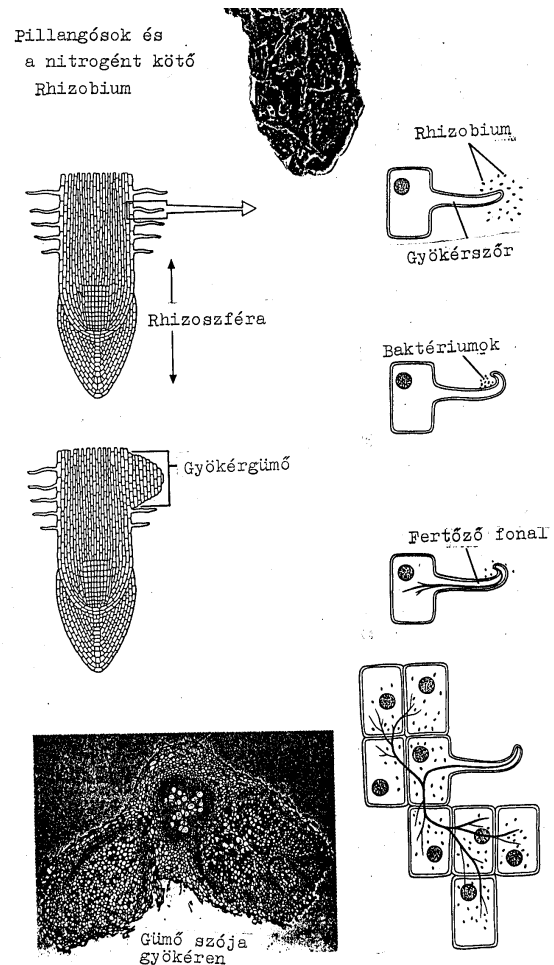


A *Klebsiella pneumoniae* glutamin-szintetázban sérült mutánsaiban nitrogénáz sem képződik. Ha azonban glutaminanalógnaként metionin-szulfoximint adunk a tenyészetbe, akkor a nitrogénáz képződés megindul és

hamarosan megjelenik a képződött ammónia is. Megjegyzendő, hogy a metionin-szulfoximin a Cianobakterium fajok nitrogénkötő aktivitását is befolyásolja. Ez az enzimerendszer szinte minden nitrogénkötő sejtben megtalálható. Sőt a rendszer egyes elemeit nitrogént nem kötő mikroorganizmusokban is megtalálták; így például az *Aerobacter aerogenes*-ben is működőképes. Az *Escherichia coli*-ban a glutamát képződését egy vas-kén fehérje segíti.—Az energiaigényes nitrogénkötési mechanizmus szabályozottsága a létért folytatott küzdelemben a fennmaradás, a túlélés feltétele. A bonyolult szabályozási mechanizmus kulcsfontosságú eleme ugyanaz a glutamin-szintetáz, amelyik a nitrogént nem kötő szervezetekben oly finoman szabályozza a nitrogén-anyagcsere enzimeinek a képződését. Az *Escherichia coli* 12 alegységből álló glutamin-szintetázának a működését a sejten belüli szabad aminosavak mennyiségi viszonyai befolyásolják. Az aminosavak feldúsulása alloszterikusan gátolja az egyes alegységek működését. A tartósan gátolt alegységek adenilezésével végül is inaktíválódik a glutamin-szintetáz. — A *nif*-lokusz géncsomagjairól a vizsgálati módszerek fejlődése egyre részletesebb adatokat szolgáltat. Több laboratóriumban végzett kísérletekkel igazolták, hogy a dinitrogenáz géncsomag *nif-H* és *nif-D* génje csak a nitrogénkötő mikroorganizmusokból nyert DNS-készítményekkel hibridizál. Nem hibridizál azon mikroorganizmusokból nyert készítményekkel, amelyek a törzsfajlás folyamán elvesztették ezt az ősi képességüket.

A nitrogénáz komplex képződésért felelős *nif*-lokusz géncsomagjainak (*nif-B*, *nif-F*, *nif-D*, *nif-H*) működését a szabályozó szerepet betöltő *nif-G* génen keresztül az a glutamin-szintetáz befolyásolja, amelynek az aktivitását az anyagcsere különböző nitrogént tartalmazó termékei (glutamin, aminosavak, nukleotidok) határozzák meg. A *nif*- régió a hisztidin bioszintézis génjeinek a közelében helyezkedik el. Ettől nem túl távol található a glutamin-szintetáz gén, amit az inaktív adenilezett glutamin-szintetáz represszál. nitrogént kötő mikroorganizmusokban az aktív glutamin-szintetáz serkenti a nitrogén fixálását végző mechanizmust. Az adenilezett inaktív glutamin-szintetáz viszont visszafogja a nitrogénáz komplex működését. Enzimszinten a glutamin feldúsulása is fontos szabályozó mechanizmust működtet, de a sejten felszaporodó ammónia is visszaszorítja a nitrogénáz képződését. Kiterjedt vizsgálatok sem tisztázták még eddig teljesen a növényekkel szimbiózisban élő mikrobák bejutásának a módját a merisztémába. Az eddig nyilvánosságra került eredmények szerint a *Rhizobium* törzsek nem termelnek olyan enzimeket (pektináz, celluláz), amelyek a bejutást segítenék. Egyesek a növények által termelt lektinszerű anyagoknak tulajdonítanak szerepet). Ezek a lektinek olyan növényi eredetű fehérjék, amelyek egyaránt képesek kötődni a gyökérszőrök felületéhez és a baktériumok poliszacharid természetű tokanyagához. A gazdasejtől származó lektin és a baktérium poliszacharid külső burka közötti kapcsolat a gyökérszőröket spirális felcsavarodásra ingerli. Az is bizonyított, hogy a gazdanövény sejtmedvében előforduló anyag hatására a baktérium lektinkötő képessége fokozódik. Bohlool és Schmidt fluoreszcein-izotiocianáttal jelzett lektin specifikus kötődésével igazolták, hogy csak azon baktériumokhoz kötődött a jelzett fehérje, amelyek képesek voltak a gazdanövény fiatal gyökereiben gümők képződését indukálni. A gazdanövényben előforduló, poliszacharidot bontó enzimek kedvezően módosítják a baktérium külső poliszacharid burkát. A szója esetében például egy galaktózra specifikus lektin kötődik a baktériumnak a növényi sejtfal bontó enzimek által enyhén módosított felszínéhez és ezzel megindul a nitrogénkötő csomók, gümők képződése. A csomóképződést a rifampicin, illetve a kloramfenikol gátolja.

Az osztódó *Rhizobium*-sejtek körül fodrozódó gyökérszőrök a baktériumokat szinte körül ölelik. A gyökérszőrökben hamarosan jól látható a növény által kiválasztott anyagból kialakuló fertőző fonal, amelyen az osztódó baktériumok sorba rendeződve a kéreghez, majd a merisztéma sejtekhez jutnak. Az elektronmikroszkópos felvételek szerint ez a fonal a gyökérszőr sejtmagjával létesít kapcsolatot. Ennek hatására a gyökér kéregsejtjei osztódni kezdenek, a fertőző fonal pedig többszörösen elágazva belenő ezekbe a sejtekbe. A fiatal kéregsejtek citoplazmájában a rizobiumok a gazdasejt által fejlesztett peribakteriális membránnal körülvéve különféle formát, úgynevezett bakteroid alakot vesznek fel. A gazdaspecifikus nodulin (gümőfehérje) mellett ekkor képződik a



baktériumsejtben levő információ alapján a nitrogenáz komplex. Átalakul a citokrómszisztéma. Megjelenik a *Rhizobium*-ban levő információ alapján a leghemoglobin, amelynek a fehérje része a növényből származik.

A nitrogénfixálás intenzitása egyrészt a baktériumban levő génektől és azok szabályozási mechanizmusától függ, másrészt jelentős mértékben befolyásolják a nitrogénkötést a környezeti tényezők, az energiaellátottság, a megvilágítás, a fotoszintézis teljesítménye. A növény szerepe is meghatározó jellegű. Előfordul, hogy ugyanaz a *Rhizobium* törzs az egyik növényben nagy aktivitással köti a nitrogént, amíg a másikban ugyancsak gyenge teljesítményt mutat. Ezért mesterséges fertőzéskor többnyire különböző pillangós növényfajokra specifikus *Rhizobium* fajok tevékenységét hasznosítva, baktériumkeveréket alkalmaznak és az adott körülményeknek megfelelő törzs kiválasztását a természetre bízzák. A talaj oltására jól használható a tözegre vitt baktériumszuszpenzió, amit viszonylag könnyen lehet megfelelő mennyiségben a talajba juttatni. Olyan technológia is ismert, amikor az elvetendő mag felületére juttatják a baktériumtenyészetet.

A gümőképződése erősen függ a környezet hőmérsékletétől. Az őshonos növényeinknél általában 7-10 °C között fejlődnek optimálisan. A szójabab esetében 15-18 °C az optimális hőmérséklet. Előfordul, hogy csak a gümőképződik és nem alakul ki a nitrogenáz komplex. Előfordulhat az is, hogy a gümők bakteroidjaiban kifejeződik a nitrogenáz komplex és mégsem köt nitrogént. A talaj-pH is erősen befolyásolja a törzs teljesítményét; általában pH = 3,5-5,3 az optimális. A lóherefélék (*Trifolium*) esetében ez a tartomány szűkebb; 4,7 pH alatt nem képződik gümők!

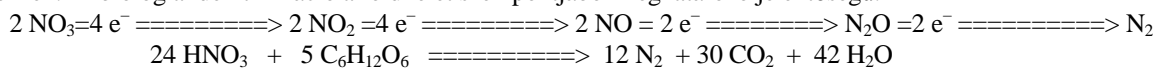


A csomóképződést számos ismeretlen anyag képződése kíséri. Így például az első fertőzést követő gümők képződése akadályozza az újabb fertőzés bekövetkezését. Ez a szabályozó anyag a csomók számát optimális értéken tartja. A gümőképződés a talaj nitráttartalmától függ; 1 mM-nál nagyobb koncentráció gátolja a csomóképződést, illetve csökkenti a már képződő gümők méretét. Ennek a hatásnak a csökkentése céljából nitráttűrő mutánsokat állítottak elő. Ezek a szója mutánsok 5 mM kálium-nitrát jelenlétében is fejlesztettek gümőt, a gümők pedig tízszer gyorsabban növekedtek, mint a vad növény nitrogénköti csomói. A *Rhizobium*-mal való oltást hat óra múlva követi a csomóképződés. Ha a baktériumokat előzőleg gyökérszörkivonattal kezeljük, akkor a csomóképződés már két óra múlva megindul. A kezelés hatására gélelektroforézissel kimutatható egy új fehérje megjelenése a baktériumokban. A tokpoliszacharidban ilyenkor emelkedik a galaktóz és csökken a mannóz mennyisége; egyidejűleg megjelenik a szénhidrát komponensek között az arabinóz és a xilóz. A nitrogénkötés fokozását célzó kutatómunka során nem csak a fixálás szempontjából kiemelkedő teljesítményekre képes törzsek kiválasztását végzik a mindenkori gazdanövényvel való kompatibilitás szempontjából, de jelentős figyelmet fordítanak a növényvédő szereket tűrő képességükre is.

A nitrogénkötésben szerepet játszó asszociációk ismertetésekor fontos kiemelni a *Frankia* fajok szerepét. *Frankia* törzseket izoláltak a *Betulaceae*, *Eleagnaceae*, *Rhamnaceae*, *Rosaceae*, *Casuarinaceae*, *Datisceae*, *Myricaceae* családba tartozó növényfajok gyökereiből. Ezek a gyökérszövetben kialakuló nodulusokban elburjánzó endofitonm szervezetek mikroaerofil laboratóriumi körülmények között *in vitro* is képesek nitrogénkötésre.

**A DENITRIFIKÁCIÓ** A környezetben előforduló nitrátot a mikroorganizmusok egy része anaerob körülmények között csupán elektronakceptorként, légzési szubsztrátumként hasznosítja, miközben a jelenlevő szerves anyagot elégetik (*Pseudomonas sp.*, *Thiobacillus denitrificans*, *Micrococcus denitrificans*, *Serratia sp.*, *Achromobacter sp.*). A nitrátképződésnek határt szab a vegyület toxicitása. A redukció eredményeként megjelenő nitrit spontán alakulhat dinitrogén-oxidá, majd reakcióképes nitrogén-oxidá, ami a légkör ózontartalmát csökkenti.

Abiogén denitrifikáció ugyan kimutatható, ez azonban elhanyagolhatóan csekély mennyiségű. Vannak azonban olyan fajok, amelyek anaerob körülmények között elemi nitrogénné redukálják a nitrogén-oxidokat. Ezek a mikrobák aktív denitrifikáló aktivitásukkal környezetünk védelme szempontjából életfontosságú tevékenységet végeznek. A biológiai denitrifikáció a földi élet szempontjából meghatározó jelentőségű.



Ezen folyamat közben jelentős energia (11930 kJ) szabadul fel, amely az idesorolt obligát anaerob szervezetek számára a szénhidrát igen gazdaságos hasznosítását jelenti. Egy molnyi glükóz elégetése oxigén jelenlétében 2872 kJ energiát szolgáltat. Ugyanez anaerob körülmények között, elektronakceptorként nitrátot hasznosítva a nitrogén képződéséhez, 2386 kJ energiabevételt jelent. Talán nem haszontalan felidézni, hogy anaerob körülmények között a glükóz tejsavas erjedésekor a szabadenergia változás alig 197 kJ energiát tesz ki. Ezek a mikrobák az elektronakceptorként szereplő légzési szubsztrátumot, a nitrátot asszimilációs folyamathoz szükséges enzimek hiányában általában nem hasznosítják nitrogén- forrásként. Nem képesek a nitrátot ammóniává redukálni. Sőt oxigén jelenlétében beszüntetik a denitrifikáló tevékenységüket, és elektronakceptorként a gazdaságosabban hasznosítható oxigént választják. A mikrovilág denitrifikáló aktivitása a környezetünk állapotának fenntartása szempontjából alapvető jelentőségű. A természetben folyó denitrifikáló folyamat hiányában a fotoszintézis által termelt oxigén az elmúlt évmilliók alatt a légkör nitrogéntartalmát már eloxidálta volna.

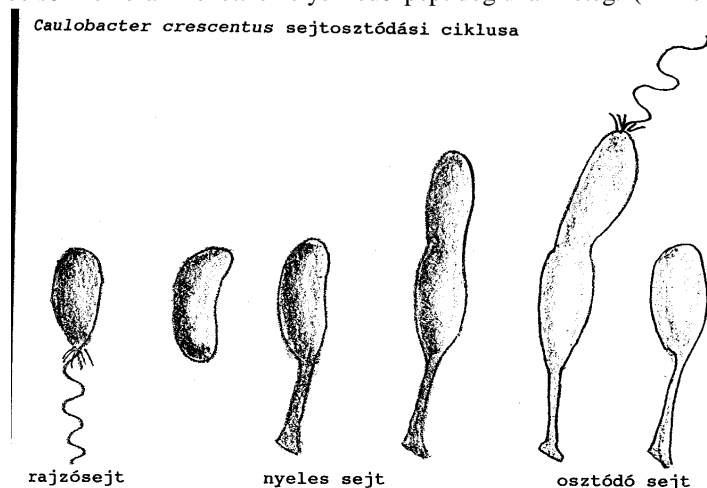


## BIMBÓZÓ BAKTÉRIUMOK–NYELES, FÜGGELÉKES SZERVEZETEK

Gram-negatív aerob vagy mikroaerofil élőlények. Élőhelyeiken az aljzathoz speciális nyéllal tapadva, azon nyálkás bevonatot alkotnak. Általában e nyél végén fejlődik a bimbózással szaporodó mikroszervezet (anyasejt). A Bergey's Manual ide sorolja a hasadással szaporodó függelékes és nyeles baktériumokat is (lásd a Siderobacteriaceae függelékeként szereplő *Gallionella* és *Nevskia* fajokat).— A *Hyphomicrobium* fajok talajból izolálhatók, emlősökre nézve apatogének. Mezofil tulajdonságú, 2-3 μm méretű ovoid sejtjeik nem különülnek el a nyéltől. A külső és a belső membrán, valamint a sejtfal az egész sejtet és a nyelet beburkolja. Jellemző rájuk, hogy a metanolt szén- és energiaforrásként egyaránt képesek hasznosítani, sőt metanollal a *Hyphomicrobium*-ok növekedése serkenthető. Néhány *Hyphomicrobium* faj növekedését B<sub>12</sub> vitaminnal lehet fokozni. A Stutzer és Hartleb által a múlt században izolált *Hyphomicrobium vulgare* törzs kipusztult. Az ATCC gyűjteményből ma a neotípus törzs (27500) kérhető.

A *Planctomyces* fajok a bimbózó prokarioták egy különleges csoportját alkotják. Vékony burokkal ellátott sejtjeikben a peptidoglikán sejtfal nem mutatható ki; ezzel egybevágóan a β-laktám antibiotikumokkal szemben érzéketlenek. Jellegzetes gömbszerű telepet alkotnak. Az eutrofizációt jelezve általában a szerves anyagban gazdag vizekben szaporodnak el. Egyik fajukat (a Békeffi Remigről elnevezett *Planctomyces bekeffi*) 1924-ben Gimesi Nándor izolálta a ma már feltöltött Lágymányosi-tóból. Ezt követően számos idesorolt édesvízi faj (*P. limnophilus*, *P. staleyi*, *P. guttaeformis*, *P. hajdui*) leírása jelent meg a szakirodalomban. Édesvízben tenyésztő fajaikon kívül sótűrő fajokat (*P. maris*) is izoláltak. Lassan fejlődve glükózt és sórt tartalmazó táptalajon is képesek növekedni. Élesztőkivonatot és peptont tartalmazó táptalajon a növekedésük sebessége ugyan felgyorsul, de a generációs idő ez esetben is legalább 13 óra. Megjegyzendő, hogy az idesorolt fajok egy részét ez ideig axenikusan nem sikerült tenyésztetni.

A *Caulobacter* fajok főleg édesvízben előforduló, kissé görbült, hegyesedő végű pálcák. Előszeretettel tapadnak elhalt baktériumokhoz. Különlegessége ennek a csoportnak, hogy a rajzósejt morfológiailag különbözik az irreverzibilisen rögzített, nyeles sejt alakult össejtől. A laboratóriumi körülmények között növekedő tenyészet kétféle sejtet tartalmaz, egy rögzített alapsejtet és egy mozgékony alakot. Csak a rögzített sejt osztódik. Mivel ez a fiziológiai különbség a mozgékonyban jelentkezik, az anya- és a leánysejt egyszerűen szétválasztható. Az anyasejt és az utód könnyű elkülöníthetősége a tenyészet szinkronizálását megkönnyítette. Az elkülönített rajzó sejtek szinkronizált fejlődése lehetővé tette az egyedfejlődési ciklus differenciálódási jelenségeinek részletes vizsgálatát. Nem véletlen, hogy az elmúlt húsz évben Shapiro, Poindexter, Newton és mások éppen a *Caulobacter crescentus* (ATCC 15252) baktériumon végezték az ostormozgás molekuláris biológiai vizsgálatát. Kutató munkájuk eredményeként ma a fejlődési folyamat kitüntetett enzimeit kódoló gének térképét is ismerjük. A mozgékony rajzó sejtben poláris ostort, az ostor körül píluszokat látni, de itt találjuk a DNS- és RNS-fágok receptorait is. A fejlődési folyamat későbbi szakaszában az ostor elvesztésével a fágérzékenység is megszűnik. A nyél kifejlését a membrán és a peptidoglikán falszintézis fokozódása kíséri. A nyél anatómiai felépítésében jól kimutatható a külső és belső membrán között elhelyezkedő peptidoglikán réteg. (A membránszintézis esetleges genetikai hibája meg-



kadályozza a nyélképződést!)

A kifejlődött nyeles sejtben hamarosan megindul a DNS-állomány megkettőződése, valamint a pilin nevű fehérje szintézise. Időben jól követhetően indul meg a mozgásszerv építőelemeinek a szintézise. Az ostor hasonló szerkezetű, de kromatográfiával elkülöníthető (flagellin-A, flagellin-B) alegységekből épül fel. Az ostor mozgását beindító kemotaktikus folyamat működésében résztvevő enzimek (metiltransferáz, metilakceptor aktivitás) szintézise is ebben a szakaszban folyik. Ez utóbbi enzimek aktivitása az elkészült rajzósejtben éri el a maximális szintet. A

fejlődési program várakozás nélkül fut tovább. Az elkészült rajzósejt a nyeles sejtről leválva megtapadásra alkalmas helyet keres, azt megtalálva elveszti ostorát és nyelet fejleszt, majd pedig a DNS megkettőződésével kezdetét veszi egy új szaporodási ciklus; amely (peptont és élesztőkivonatot tartalmazó tápközegben) 50-60 percig tartó fiziológiai folyamat.

## CSÚSZVA MOZGÓ, TERMŐTESTET KÉPZŐ BAKTÉRIUMOK

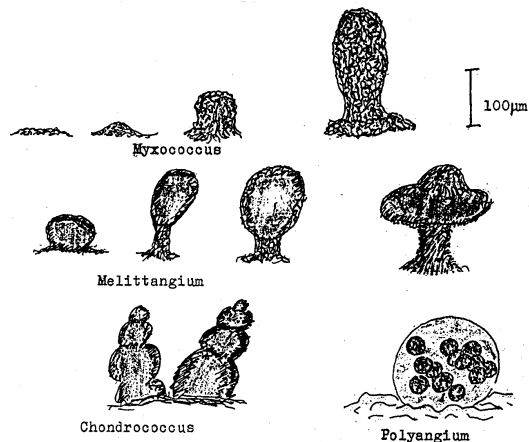
Szilárd felületen, víz-levegő határhártyán mozgó szerv nélkül is képesek haladni. Nyálkás burokkal fedett, aerob illetve mikroaerofil, Gram-negatív, rövid pálcikák. Öreg korban autolízisre, szferoplaszt képzésre hajlamos szervezetek. Színesek: protoporfirint, karotint, melanint tartalmaznak. Egyes fajaik sporangiumot, termőtestet és ebben myxospórát hoznak létre. Mások vékony, de mechanikai igénybevételt is tűró sejtfallal rendelkező, gömbalakú, hő-, kiszáradás- és UV-rezisztens mikrocisztát képeznek. A kifejlődött tenyészeik hűtőben, anaerob körülmények között általában eltarthatók. Kemoorganotrófok, a talajban korhadéklebontó szerepet vállalnak. Különböző poliszacharidok, cellulóz és kitin lebontására is képesek. Nedves helyeken, állati ürüléken fordulnak elő.

### MYXOBACTERIALES rend.

A talajból izolált, korhadéklakó *Myxobacterium*-ok néhány képviselőjét Berkeley 1857-ben írta le. Valamennyien termőtestet képeznek; sejtfaluk vékony. A nyálkagombákhoz hasonlítanak, annak ellenére, hogy semmiféle rokonság nincs közöttük; csupán az evolúciós konvergencia érdekes példái. —Évtizedekig a gombák közé sorolták őket. Thaxter csak 1892 -ben ismerte fel a csoport tagjainak prokariota jellegét. A múlt század mikrobiológusait megtévesztette a jelentős méretű, termőtestszerű sejtaggregátum képződése. A termőtest kialakulásának első lépéseként a sejtek csoportosulnak, majd látszólag differenciálatlan sejtmasszává olvadnak össze. Néhány nap múlva, a fejlődési folyamat végén a rücskös felületű nyálkás termőtest gömbalakú spórákat tartalmaz. A spóráképzés előfeltétele a *Myxococcus* fajok esetében: a tápanyaghiány, a megfelelő sejtsűrűség, a sejtek mozgékonyasága és a szilárd felület. Laboratóriumi körülmények között a spóráképzést glicerin, etilén-glikol, indol, feniletanol, dimetilszulfoxid indukálja. A spóráképzés genetikailag független a termőtest képzéstől. A sejtaggregálódásban sérült mutánsok is spórává alakulhatnak. A mozgás-hibás sejtek életfunkcióit az ép sejtekből kiáramló anyaggal stimulálni lehet.

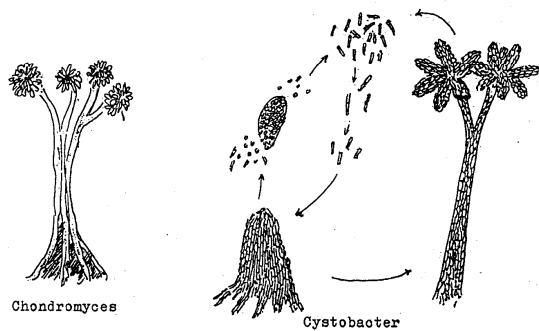
A *Myxococcus xanthus* rövid pálcika alakú vegetatív sejtjei folyamatosan rövidülve és vastagodva alakulnak gömbölyű spórává. A folyamat során a peptidoglikán sejtfal merevsége fokozódik. A kialakuló myxospóra jól tűri a kiszáradást. Ellenáll a mutagén sugárforrások károsító hatásának, hőérzékenysége minimális és a membránt károsító detergensnek sem csökkentik az életképességét. Nyugvó állapotban akár tíz esztendőt is kibír az életképesség csökkenése nélkül. — Az utóbbi évtizedekben antibiotikum termelő képességüket is vizsgálják, mégpedig azzal a megalapozott várakozással, hogy a különleges rendszertani helyük különleges, új szerkezetű antibiotikumok felfedezéséhez vezet. Fontosabb családok (fajok):

- Myxococcaceae*     *Myxococcus xanthus*  
*Archangiaceae*     *Archangium*  
*Cystobacteriaceae*     *Cystobacter*  
                                  *Melittangium*  
                                  *Stigmatella aurantiaca*  
*Polyangiaceae*     *Polyangium fuscum*  
                                  *Polyangium lichenicolum*  
                                  *Nannocystis*  
                                  *Chondromyces*



### CYTOPHAGALES rend

Gram-negatív aerob és obligát anaerob kemolitotróf, organotróf és mixotróf fajok tartoznak ide. A zsírsavtartalmukra jellemző az elágazó 2-, illetve 3-hidroxi származékok domináns jelenléte. Az organotrófok között agarbontó, cellulózbontó és kitinbontó fajokat ismerünk. Színesek, termőtestet nem képeznek. Szilárd táptalajon többnyire fonalas alakban jelennek meg. Fermentációs aktivitásuk és légző anyagcseréjük ép; egyes fajaik nitrátlégzésre is képesek. —Az első idesorolt fajt, a *Cytophaga hutchinsonii*-t 1929-ben Winogradsky izolálta a talajból szűrőpapírt használva szelektáló szénforrásként. —A *Cytophaga columnaris* halpatogén baktériumot folyóvízből kifogott lazacról izolálták. A *Cytophaga allerginae* humán kórokozóként került leírásra (Infect. Immun. 43:206-216. 1984). A szájüregben élő, fakultatív anaerob *Capnocytophaga* fajok laboratóriumi körülmények között 5 % széndioxid jelenlétében tenyészthetők.



### **LYSOBACTERIALES rend**

Az idetartozó, kitinen jól növekedő baktériumok 70 µm hosszú, erősen mukoid telepeket képeznek. A nitrátot nitrogénforrásként hasznosítják. Különösen kiemelendő a lizogén tulajdonságuk. Enzimbólusukkal nem csak a Gram-pozitív és Gram-negatív prokarioták, valamint a sugárgombák sejtfala, de az élesztők és fonalas gombák, továbbá a zöld algák sejtfala is lebontható. A *Lysobacterium*-ok extracellulárisan proteázt, RNS-és DNS-bontásra alkalmas nukleázokat, cellulázt, pektinázt és kitinázt termelnek. Talajmintából könnyen izolálhatók, ha egyedüli szénforrásként élesztőből, vagy fonalas gombából származó nyers kitin készítményt használunk.

A *Lysobacter enzymogenes* öreg telepei jelentős mennyiségű sötétbarna pigmentet választanak ki a táptalajba. A *L. gummosus* nem pigmentet, hanem gumyszerű mukoidot választ ki a közegbe. A *L. antibioticus* a myxin nevű antibiotikumot termeli.

### **BEGGIATOALES rend**

A hivatalos rendszer idesorolja őket, bár egyre több biokémiai és élettani, valamint anatómiai megfigyelés indokolja a csoportból való kiemelésüket és a kékeszöld baktériumok függelékeként való tárgyalásukat.

Mi is ezt tettük; Lásd a 138-ik oldalon ismertetett anyagot

## SPIRÁLIS FELÉPÍTÉSŰ BAKTÉRIUMOK

Különleges, forogva mozgó, hajlékony, vékony, de hosszú (0,2-0,8 x 5-50 $\mu$ m) pálcikák.— A *Spirochaeta* félék neve a görög σπειρα, χαιτη spirális és haj szóból származtatható. Aerob, anaerob és fakultatív anaerob, Gram-negatív, sok esetben láncot alkotó szervezetek. Szaprofita és parazita fajaik környezetünkben szabadon élnek, de patogén fajaik is ismertek. Anatómiai különlegességként a sejtmembrán és a fehérjeegységekből felépülő külső burok között hosszanti irányba húzódó fibrilla kötegeket találunk. A *Cristispira* genus fajai (30-150  $\mu$ m hosszú, 0,5-3  $\mu$ m átmérőjű, 3-10 spirált tartalmazó pálcák), csigák és kagylók élősködői.

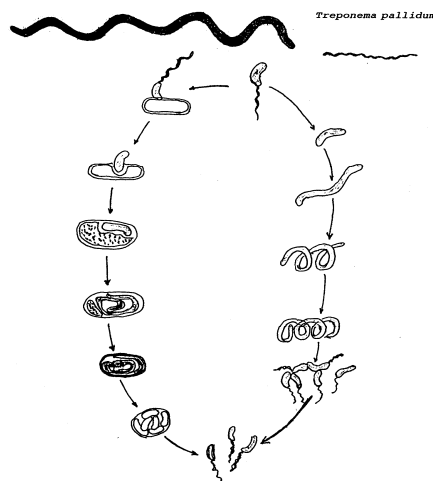
A *Treponema* genus fajai között ismert kórokozókat találunk. Nevük a τρεπο és νεμω forgó fonál szavak összetétele. A szájüregben élő *Treponema denticola* és *T. orale* kóros elváltozást nem okoz. De ide sorolható a szifilisz (lues) hírhedt kórokozója, a *Treponema pallidum*. Az igaz, hogy a fertőzés súlyos kórfelméjének megjelenése 1490-től ismeretes, azonban Columbus matrózainak a szerepe a terjesztésben minden alapot nélkülöz. A kórokozó méretei miatt (0,2  $\mu$ m x 5  $\mu$ m) áteső fényben, normál mikroszkóppal nem látható, sötétlátóterez technikával azonban észlelhető. Laboratóriumban sterilre szűrt szérumot, glükózt, piroszőlősavat, ciszteint és glutationt tartalmazó táptalajon életben tartható. Osztódása igen lassú, nyúlherébe oltva jól szaporítható. A sejtfaat határoló külső fehérjefelület által indukált ellenanyagképződés nem ad védelmet az antigén nagyfokú változékonysága miatt. A primer fertőzés után a gazdaszervezetbe hatoló mikroba a nyirokcsomókba vándorolva elszaporodik, 6-8 hét múlva a véráramba jutva létrehozza a bőrkiütésekben jelentkező generalizált fertőzést. Ezután sok éves nyugalmi periódus következik. A harmadik fázis súlyos szívkoszorúér és idegrendszeri elváltozásokban jelentkezik. Korai szakaszban penicillinnel gyógyítható.

Részletesen vizsgálták az *Aquaspirillum serpens* makromolekuláris sejttaaróját. A globuláris fehérjemolekulákból felépülő, legszorosabb hexagonális illeszkedés szerint elrendeződő réteg nátriumlauril-szulfáttal könnyen eltávolítható. A fehérjeréteg fémionok, elsősorban kalcium közvetítésével ionos kapcsolatban áll a külső membránnal. A detergenssel lemozdított globuláris egységek kalcium, illetve stroncium jelenlétében stabilan visszarendeződnek. A regenerálódás in vitro más kationok jelenlétében is bekövetkezik, de az így kialakult réteg vizes hígítással újra oldatba vihető.

A *Spirillaceae* családba tartozó szaprofita baktériumok egyik legnagyobb méretű (3-5x16-18  $\mu$ m), édesvizeinkben élő képviselője a *Spirillum volutans*, citoplazmájában polihidroxi-vaicsavat (PHB) halmoz fel (J. Bacteriol. 90:817. 1965).— A *Spirillum minor* az egerekben élve kóros tünetet nem okoz, az ember számára (egérharapás) azonban patogén.

### A fakultatív parazita *Bdellovibrio bacteriovorus* fejlődése

A *Bdellovibrio* fajok poláris monotrich ostorral mozognak; hajlott, rövid, tömzsi pálcika alakúak. Elnevezésük *Bdellovibrio bacteriovorus* (ATCC 15356) a βδελλα pióca és az alakra vonatkozó vibrio összevonásából adódik. Gram-negatív fajok fakultatív parazitái. Előszertettel élősködnek az *Escherichia coli* sejteken (J. Bacteriol. 91:2006, 95:1952-60). A megtámadott baktérium sejtfaának és a citoplazmában előforduló bio-polimerjeinek a lebontására szolgáló enzimeket termel. A citoplazmamembránon nem hatol át, hanem a periplazmikus térből táplálkozva teljesen feléli a megtámadott baktérium sejtfaatartalmát. Az ábra ezt a fejlődési ciklust mutatja be. Végül többször osztódva kerül a külvilágba. Tápanyagban gazdag, élesztőkivonatot és peptont tartalmazó táptalajon gazdasejt nélkül is képes növekedni. A hátyával elválasztott osztódó sejtek spirális fonalszerű képletet alkotnak, amelyből később fragmentálódva szabadulnak áldozatukat kereső parazitává. A *Bdellovibrio* nem képes megtámadni az eukarióta sejteket. Ezzel összhangban az emlős szervezetet nem készletti számottevő immunválaszra. Ismeretes olyan *Bdellovibrio*, amely különös előszertettel támadja a *Clostridium* fajokat, de a zöld algák (pl.a *Clorella vulgaris*) sejtfaatát is képesek feloldani. A spirális baktériumok külső fehérjerétege biztos védelmet jelent a *Bdellovibrio* támadása ellen. A *Campylobacter* nemzetség mikroaerofil fajai (hajlott, S alakú pálcá) az utóbbi időben hasúri fertőzések kórokozóiként váltak ismertté. Nevük a κομπυλος és βακτηρια (hajlott bot) szavakból alakult. Mozgékonyak. Ostoruk háromszor hosszabb a testüknél. Szénhidrátot nem hasznosítanak. A *Campylobacter jejuni* (újabb néven *Helicobacter jejuni*) kimutatása nem könnyű feladat. Szerepük lehet az ulcus kialakulásában. Tenyésztésük speciális körülményeket igényel: 5 % oxigént, 10 % széndioxidot és 85 % nitrogént tartalmazó légkörben 42 °C-on szaporíthatók. Alacsonyabb hőmérsékleten laboratóriumi körülmények között a bélbaktériumok túlnövik őket. A *C. sputorum* a szájban és a genitáliákban élő mikroaerofil parazita.



## GRAM-NEGATÍV AEROB BAKTÉRIUMOK

Kémiai felépítésük és biokémiai tulajdonságaik alapján meglehetősen távol álló családokat tartalmaz ez a poláros vagy peritrich ostorral mozgó, külső membránt fejlesztő, heterotróf módon táplálkozó, de szénhidrátot nem fermentáló csoport. Gram-negatív festődésű pálcák és kokkusok tartoznak közéjük.

### PSEUDOMONADACEAE

A családnév a görög ψευδος (hamis, nem szokványos) és a μωνος (parány) szóból vezethető le, ami az idesorolt baktériumok különleges tulajdonságaira utal. Jelentős szerepet játszanak a szerves anyagok mineralizációjában. Kataláz-pozitív, kemoorganotróf, poláros ostorral mozgó pálcikák. Jellegzetes fluoreszkáló pigmentet választhatnak ki, különösen vashiányos tenyészkörülmények között. Nagy számban előforduló, főleg talajlakó, a közönséges fertőtlenítő szereknek (dezinficiens) ellenálló, a detergenset (pl. sterogenol, ultrasol) is elviselő szervezetek. A vízcsövek tömítésére használt kócon is megélve a csapvízben is előfordulhatnak. Egyes fajaik a szénhidrogéneket egyedüli szénforrásként is képesek hasznosítani. Szerepük az ásványolajjal fertőzött környezet megtisztításában is figyelemre méltó. Biokémiai tulajdonságaik a sejtburkok különleges felépítésével függenek össze. A külső membránban a lipopoliszacharid és foszfolipid építőelemeken kívül szabályosan rendezett rétegben globuláris lipoprotein és glükoprotein molekulák helyezkednek el. A sejtburkok külső rétegéből EDTA-val való kezeléssel 80 % fehérjét és 20 % lipopoliszacharidot tartalmazó frakció különíthető el. A kinyert fehérje 85 %-a magnéziumion hatására visszaépül az EDTA-val kezelt sejtburkba. Az így nyerhető, némileg regenerált sejt ozmotikus stabilitása ugyan helyreáll, de osztódni már nem képes.

Más Gram-negatív baktériumok külső membránjától lényegesen eltérő kémiai szerkezetre következtethetünk, az ellenük hatásos  $\beta$ -laktám antibiotikumszármazékok kémiai szerkezetének összehasonlításakor is. A hidrofób oldalláncsal rendelkező, gyengén savanyú kémhatású benzil-penicillin (G-penicillin), vagy a fenoximetil-penicillin (V-penicillin) csak a Gram-pozitív eubaktériumok ellen hatásos. A gram-negatív baktériumok legtöbb faja ellen a külső membránon zwitter ionként áthatoló ampicillin, vagy ennek p-hidroxi származéka, az amoxicillin hatásos. Ezek a vegyületek azonban nem gátolják a *Pseudomonas* fajok növekedését. Megjegyzendő, hogy *in vitro* a különböző mikroorganizmusokból kinyerhető penicillinkötő fehérje béta-laktám kötőképessége közel azonos mértékű. Ebből következik, hogy az antibakteriális hatás az antibiotikum felvehetőségétől függ. Hatásos származéknak találták viszont a *Pseudomonas* okozta fertőzés leküzdésére a benzil-penicillin karboxilezett származékát (carbenicillin), amely kémiai szerkezetéből következően könnyedén áthatol a családot jellemző különleges külső membránon. A *Pseudomonas* fajok széles spektrumú lebontó aktivitása a periplazmikus tér különösen gazdag enzimmészletével magyarázható. Nemcsak a külső membrán és a mureinréteg, de a citoplazmamembrán és a peptidoglikán réteg között is nagy mennyiségű feltételezhetően biológiailag aktív fehérje található. Az itt található enzimek több, a gyógyászatban sikerrel használható antibiotikum inaktiválására képesek. Ezért sok úgynevezett polirezisztens fajt találtak a klinikai anyagokban. Az itt előforduló fehérjék sok esetben plazmid eredetűek. Sőt, az utóbbi időben tervszerű géntechnológiai munkával sikerült új tulajdonságokkal gazdagítani a kiválasztott fajok enzimmészletét. Ezek közül a murein réteghez kovalensen kötődő lipoproteinek zsírsav elemei a külső membránba nyúlva rögzítik azt. Az eddig leírt több mint 250 fajuk között sok növényi kórokozót és állatpatogén fajt találunk. Néhányat gyakorlati jelentőségük miatt érdemes megjegyezni:

*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145). Talajból és vizekből gyakran izolálható (0,5-0,8 x 1,5-3  $\mu\text{m}$ ), poláris monotrich ostorral gyorsan mozgó pálcika. 37-41 °C-on jól nő, 4 °C alatt viszont nem szaporodik. Nitrát jelenlétében anaerob körülmények között is képes szaporodni mint nitrátlélegző. Jellegzetes diffuzibilis pigmentet választ ki. Gyakran előfordul a klinikai anyagokban is sebek, égések és a vizeletkiválasztó rendszer másodlagos fertőzéseként, különösen a széles spektrumú antibiotikumok használatát követően.

*Pseudomonas fluorescens* (ATCC 13525). Gyakran okozza az élelmiszerek fertőzöttségét, mert 4 °C alatt, a hűtőszekrényben tartott felvágott felületén is képes osztódni, azon zöldes bevonatot hoz létre, de 40 °C-on már nem képes növekedni. Optimális tenyésztési hőmérséklete 25-30 °C. Folyékony tápközegben mozgékony (0,8 x 2,8  $\mu\text{m}$ ) pálcika, amely a logaritmusos növekedési fázis végén már lényegesen kisebb méretben található a tenyészetben. Egyes törzsei nitrát jelenlétében anaerob körülmények között is képesek szaporodni.

*Pseudomonas syringae* (ATCC 19310). Sejtjei (1 x 3  $\mu\text{m}$ ) multitrich poláris helyzetű ostorral mozognak vagy fonalat alkotva találhatók tenyészhelyükön, a növények felületén. Széles spektrumú, 25-30 °C-on jól növekedő növénypatogén faj. Szacharózból levánt, nyálkás 2-6 fruktofuranóz polimert képez. A különböző gazdanövényről izolált variánsaik alig különböztethetők meg egymástól. A dohánynövényen például valamennyi izolált törzsük erős érzékenységi reakciót vált ki. Klement Zoltán növénypatológus szerint a nemesített sárgabarackfák gyakori (gutaütés) pusztulását is ez a faj idézheti elő. Néhány törzsük külső membránjában olyan fehérje található, amely túlhűlés esetén elősegíti a jégkristály képződését és ezzel a növényt a tavaszi fagyokra érzékenyebbé teszi. Kalifornia narancsültetvényein ez ellen olyan géntechnológiai módszerrel előállított törzs elszaporításával próbálnak védekezni, amelyiknek a sejtburka nem tartalmazza a kristálygócként szereplő fehérjét.

*Pseudomonas solanacearum*. Poláris ostorral mozgó (0,7 x 2,5  $\mu\text{m}$ ) növénypatogén pálcika. Nedves klimatikus körülmények között burgonyán, paradicsomon, dohányon szaporodik. Laboratóriumi körülmények között

átoltogatva egy idő után elveszti patogenitását, miközben a nyálkás, nedves felületű patogén telepek külleme lassan megváltozik, az apatogén alak felszíne ugyanis feltűnően száraz.

*Pseudomonas testosteroni* (ATCC 11996). Lipolitikus tulajdonságú, egyesével vagy párosával előforduló mozgékony pálcika. Több mint hatvan szerves vegyület lebontására képes. Marcus és Talalay 1956-ban izolálta egyedüli szénforrásként tesztoszteront tartalmazó táptalajról. 30 °C-on jól szaporodik. Sztteroid lebontó aktivitása indukálható. A hidroxisztteroid- dehidrogenázok és a sztteroid-izomeráz enzimek előállítására és ezen enzimek képződési körülményeinek a vizsgálatára használták.

*Xanthomonas sp.* Nevük a görög ξανθία (sárga) szóból eredeztethető. Olyan sárga telepeket képző növénypatogén mikroorganizmusok, amelyek gyakorlatilag alig különböztethetők meg a *Pseudomonas* genus már ismert fajaitól. Glükózt tartalmazó táptalajon telepeik nyálkás színűek a kiválasztott poliszacharid, a xantán miatt. Trifeniltetrazolium-klorid kis mennyisége (0,02 %) már gátolja a növekedésüket. A legismertebb idesorolt faj a *Xanthomonas campestris*, amely a *Brassica campestris* parenchimasejtjeit és az edényrendszerét károsítja. A bakteriológiai rendszertan egyes művelői *Pseudomonas campestris* néven a *Pseudomonas* genus fajai közé sorolják.

#### AZOTOBACTERACEAE

Aerob kemoheterotróf (Bact. Rev. 10. 195. 1954) kövér, mozgékony pálcák vagy páros kokkusok. Talajban, vizekben és a növények felületén gyakran megtalálhatók. Tartalék tápanyagként a sejten belül polihidroxivajsavat halmoznak fel. Egyes fajaik a csúszó baktériumokéhoz hasonló sokrétegű fallal rendelkező mikrocisztát hoznak létre, ami a kiszáradástól megvédi ugyan a sejtet, de a hőtűrését nem növeli. Nevük a francia "azote" (nitrogén) szóból ered, mivel különleges tulajdonságuk a nitrogénmegkötés, amely ez esetben látszólag aerob körülmények között folyik. A nitrogén megkötéshez szükséges anaerob reduktív reakciókörülményt a fajra jellemző szokatlanul nagy légző aktivitás biztosítja, ami a baktériumsejtbe szivárgó oxigént vízzé redukálja. A talaj nitrogént kötő összaktivitását az azotobacter fajok és a cianobaktériumok ilyen irányú tevékenysége határozza meg.

*Azotobacter chroococcum*. Nagyméretű (2,5 x 4 µm), kövér, peritrich ostorral mozgó pálcika, amely mikrocisztát képez. Az *Azomonas agilis* mikrocisztát nem képez. A *Beyerinckia sp.* (ATCC 9039) savanyú közegben is jól fejlődő görbült pálcika. A *Derxia sp.* (ATCC 15994) molibdént igénylő szervezet. (Megjegyzendő, hogy a nitrogén-komplex molibdént tartalmazó vaskén-fehérje.)

#### RHIZOBIACEAE

Az idesorolt fajok vagy növényi kórokozók vagy növényi szimbionták. Laboratóriumi körülmények között mozgékony, aerob növekedő pálcikák. A fitopatogén *Agrobacterium* fajok nem kötnek nitrogént. A nagy fajspecifitást mutató szimbionta tulajdonságú *Rhizobium*, és a trópusi eredetű *Bradyrhizobium* fajok viszont a pillangós virágú gazdanövényekkel együttműködve fontos szerepet játszanak a légköri nitrogén biológiai hasznosításában. A levélen csomósodást okozó *Phyllobacterium* fajok nitrogénkötő képességéről nincs adat.

##### Agrobacterium nemzetség

Nitrogén forrásként nitrátot, ammóniát és aminosavakat is képes hasznosítani. Szaporodásához a légkörinél alacsonyabb oxigénkoncentráció is elegendő. Valamilyen sérülésen keresztül jut a növényekbe, ahol elszaporodva általában kóros szövetburjánzást okoz.

*Agrobacterium tumefaciens* (ATCC 4720). A kétszikű növényekben daganat képződését (koronagubacs) indukálja. Ez a daganatképző hatás plazmidhoz kötődik. Az információt hordozó Ti-plazmid a sejtbe jutva beépül a növényi kromoszómába, és így befolyásolja a növényi hormonok (auxin, citokin) képződését, amely azután a jellegzetes sejtburjánzást elindítja. Az *Agrobacterium rhizogenes* (ATCC 11325) a gyökérszőrökbe jutva, azok kóros degenerációját okozza.

##### Rhizobium nemzetség

Az ide sorolt fajok szigorúan aerob, laboratóriumi körülmények között kemoorganotróf, mozgékony pálcaként növekednek. Nitrogént szabadon nem kötnek. Az általuk megfertőzött gazdaszervezet gümőjében megjelenő bakteroid alakjaik képesek ezt az energiaigényes feladatot elvégezni. Fajaik nagyfokú gazdaspecifitással jellemezhetők. A *Rhizobium leguminosarum* a *Pisum sativa*, *Vicia sativa*, *Phaseolus vulgaris*, *Trifolium repens*, a *R. meliloti* a *Medicago sativa*, a *R. loti* a *Lupinus*, *Acacia*, és *Lotus corniculatus*, a *Bradyrhizobium japonicum* a földi mogyoró és a szója gyökerének fertőzésére képes (Részletes leírás a "Mikrovilág és a nitrogén" 3235. fejezetben).

#### METHYLOCOCCACEAE

A család tagjai metánt képesek hasznosítani egyedüli szénforrásként. A metanogének által termelt, környezetünkbe megjelenő metán mennyiségét azonban számottevően nem képesek csökkenteni. Jól növekednek metánolt és nitrátot tartalmazó táptalajon. Változatos formában fordulnak elő, pálcika, vibrió és kokusz alakban. Nem csak obligát metánhasznosítók, hanem fakultatív metánoxidálók (glükózbontók) is előfordulnak közöttük. Intracelluláris membránhoz kötött, fémtartalmú metán-monooxigenáz működik bennük. Calvin-Benson ciklus végzi a széndioxidkötést.

*Methylococcus capsulatus* (ATCC 19069) talajból, mocsárból izolálható. Az 1 µm átmérőjű kokkusok, általában párosával figyelhetők meg. Tokképzők. 45 °C-on 30 % metánt tartalmazó légkörben jól fejlődnek. *Methylomonas methanica* színes, ostorral mozgó pálcikák. A 30 °C-on legalább 20 % oxigént tartalmazó légkörben növekedő sejtjeik nyálkát választanak ki a környezetükbe.

## ACETOBACTERACEAE

Az *Acetobacter* és a *Gluconobacter* genus fajait a taxonómusok ide sorolják, noha biokémiai, illetve morfológiai tulajdonságaik ezt nem indokolják. Fiatal alakjaik Gram-negatív festődésűek, az idősebb sejtek azonban sokszor Gram-pozitív tulajdonságot mutatnak. Szigorúan aerob anyagcseréjűek. A folyékony közegben növekedő sejteik gyakran bőrszerű anyagot választanak ki. Növekedésük különböző szakaszában alakjuk és méretük jelentős eltérést mutat. Természetes élőhelyeiken általában (0,6-0,8 x 1,5-3 µm) hosszú ovoid baktériumok alakjában egyesével, párosan vagy fonalas alakban fordulnak elő. Élesztőkivonatot (1 %), glükózt (5 %) és kalciumkarbonátot (3 %) tartalmazó táptalajon könnyen fenntarthatók. A peritrich ostorral rendelkezőket az *Acetobacter* genus tagjaiként, a poláros ostorral mozgókát a *Gluconobacter* genusba sorolva tárgyalja a rendszertan. Az ostoros alak mellett azonban gyakran előfordulnak mozgásképtelen, úgynevezett involúciós alakok is. A két genus alakjai nemcsak az ostorok elhelyezkedése alapján, de - az irodalom szerint - a koenzim-Q rögzítő láncának a hossza alapján is megkülönböztethetők. A *Gluconobacter* esetében ez az apoláros lánc 10 izoprénegységből, az *Acetobacter* esetében viszont csak 9 egységből épül fel. Több ipari szempontból fontos faj tartozik közéjük. Nemcsak az ecetgyártásban alkalmazott törzsek, de több ketoalkohol, illetve ketosav (dihidroxiaceton, szorbóz, ketoglukonát) előállítására használható törzsük is ismert.

*Gluconobacter oxydans*. Poláros ostorral mozgó, erősen oxigénigényes pálcika, amelynek a trikarbonsav-ciklusa gyakorlatilag működésképtelen. Különleges enzimrendszerével az etanolt ecetsavvá oxidálja. Az ecetsavat nem képes széndioxidá alakítani. A tejsavból, piroszőlősavból ugyancsak ecetsavat képez. A glükózt főleg a pentózfoszfát-úton hasznosítja. Glükonsavból 2-ketoglükonsavat állít elő.

*Acetobacter xylinum*. Peritrich csillókkal rendelkező pálcika. Erős túloxidáló tulajdonságával tűnik ki. Az alkoholt, illetve tejsavat ecetsavon keresztül széndioxidá oxidálja. Glükózból glükonsavat, glicerinből dihidroxiacetont, mannitból fruktózt állít elő. Cukros táptalajon tenyésztve a tápközeg felszínén megjelenő nyálkás cellulózhártya később bőrszerű bevonattá vastagodik. — Végezetül a teljesség igénye nélkül a csoport egy hőtűrő nemzetségéről, és néhány nagyfokú gazdaspecifitásáról ismert patogén tagjáról érdemes megemlékezni.

*Thermus aquaticus* (ATCC 25104). A hőforrások határfelületén összefüggő narancssárga bevonatként fordul elő. A bevonat hosszú, vékony, (1-2 x 5-10 µm) pálcikákból áll össze. Az optimális növekedési hőmérséklete 70-72 °C; 40 °C alatt nem képes szaporodni. Sejtfalában a diaminopimelinsav helyett ornitin fordul elő. Gazdasági jelentősége: az utóbbi időben több hőstabil enzimet izoláltak belőle. Fajrokonai ennél magasabb hőmérsékleten is előfordulnak.

*Alcaligenes* nemzetséghez tartozó *A. faecalis* (ATCC 14400) a gerincesek bélcsatornájában él, főleg szimbióta asszociátum tagjaként. Anaerob körülmények között nitrát jelenlétében szaporodni is képes, miközben a nitrátból nitrogént termel!

A *Brucella* állati kórokozóként ismert, de humán megbetegedést is okozhat. Ez az 1-2 µm átmérőjű Gram-negatív festődésű kokkus. Bruce 1887-ben izolálta mint a máltai láz okozóját. Az egyes állatfajokból izolált fajait a gazdaszervezetre utaló névvel különböztetik meg. A *Brucella melitensis* a juhokban, a *B. abortus* a szarvasmarhában, a *B. suis* a sertésben, a *B. canis* a kutyában fordul elő. A fertőző csíra a nyirokrendszerből kerül a véráramba, majd a parenchimaszövetekben elszaporodva gennyes tályogokat hoz létre. Laboratóriumi körülmények között 10 % széndioxidot tartalmazó légkörben tenyészthetők. Tenyésztés közben az S típusú virulens alak mellett csökkent virulenciájú R alakok tűnnek fel. A fertőzést okozó S variáns által termelt endotoxin mérgező.

*Bordetella pertussis*. A *Hemophilus influenzae*-hez hasonlító pleomorf (0,3-0,5 x 1-1,2 µm) ovoid pálca. Az emberi szervezeten kívül hamar elpusztuló érzékeny baktérium. Bordet és Gengou 1906-ban izolálta a számarköhögés kórokozójaként. Fertőzőskor a trachea és a bronchus hámrétegében szaporodik el, és az általa termelt toxin bénítja a megtámadott sejtek csillómozgását, amely végeredményben a köhögési inger kiváltja. Az elölt baktériummal végzett aktív immunizálás tartós hatású. (A Di-Per-Te egyik komponense!)

*Francisella tularensis*. Gram-negatív pálcika. McCoy izolálta először Kalifornia Tulare megyéjében. Francis vizsgálta részletesen 1919-ben. A magas lázzal járó megbetegedés kórokozóját a nyulak tartják fenn és kullancs viszi át az emberre. Az Orosz birodalom területén is előfordul, ezért hatásos vakcinát fejlesztettek ki ellene.

## GRAM-NEGATÍV, FAKULTATÍV ANAEROB BAKTÉRIUMOK

Az ide sorolt mikroorganizmusok a legrészletesebben vizsgált baktériumcsoportot képviselik. Ennek a magyarázata a környezethez való viszonyuk. Szaprofiták vagy növényi paraziták, de a gerincesek számára patogén fajok is nagy számban fordulnak elő közöttük. Ide tartozik az *Escherichia coli*, amelynek K-12 jelű törzsét a kutató laboratóriumok világszerte standardként használják. Az ammonium-szulfátot tartalmazó táptalajon jól növekedő,  $\lambda$ -fág érzékeny törzs, a biológusok és a biokémikusok kísérleti alanyaként könyvtárnyi tudományos eredményt hozva, a molekuláris biológia kifejlődését, a géntechnológia gyors térhódítását segítette elő. A csoportba tartozó, gyakorlatilag apatogén törzsek invazívá válhatnak bizonyos plazmidok felvételével, kórokozóként való megjelenésüket elősegítheti a gyógyító céllal fehasznált antibiotikum szelektív antibakteriális hatása, amely a védelmet biztosító természetes baktérium flóra összetételét kedvezőtlen irányban módosíthatja. A csoportból két család, az *Enterobacteriaceae* és a *Vibrionaceae* részletesebb tárgyalását az alábbi táblázatok adatai is indokolják.

### Baktériumok előfordulása az emberi testen

	Aerob szervezet	Fakultatív anaerob
Szaruhártya	Nyomokban	
Bőr(cm <sup>2</sup> )	100	10 ezer–1 millió
Arc(cm <sup>2</sup> )	1 millió	10 milló
Orr váladék(ml)	10 ezer	100-tól 100 ezerig
Száj(ml)	1 millió	1 millió
Nyál(ml)	10 millió	10-100 millió
Nedves széklet (g)	10-100 millió	1-10 milliárd
Hüvely (ml)		10-100 millió

### Gram-negatív pálcák okozta humánfertőzések

(emésztőcsatornán kívüli fertőzések száma egy 540 ágyas klinikán egy év alatt)

<i>Escherichia coli</i>	2293	<i>Pseudomonas sp.</i>	61	<i>Proteus mirabilis</i>	1092
<i>Acinetobacter sp.</i>	58	<i>Klebsiella sp.</i>	1075	<i>Salmonella sp.</i>	22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	602	<i>Shigella sp.</i>	20	<i>Enterobacter sp.</i>	376
<i>Aeromonas sp.</i>	12	<i>Citrobacter sp.</i>	250	<i>Moraxella sp.</i>	2
<i>Proteus sp.</i>	196	<i>Edwardsiella sp.</i>	2	<i>Providencia sp.</i>	165
<i>Vibrio sp.</i>	1	<i>Bacteroides sp.</i>	149	<i>Haemophilus sp.</i>	26
<i>Serratia marcescens</i>	101	<i>Pasturella multocoda</i>	2		

### ENTEROBACTERIACEAE

A görög εντερον (has) szóból származó elnevezés utal az előfordulási helyükre. Az ide soroltak zömében peritrich ostoros, mozgékony pálcikák (0,3-0,5 x 2-3  $\mu$ m). Húslében jól növekednek. Nitrátot nitritté redukáló kemoorganotrófok. A légzőrendszerükön kívül a fermentáló energianyerő mechanizmusuk is működőképes, ezért egyaránt jól növekednek a légköri oxigén jelenlétében és oxigénmentes körülmények között is. Anaerob körülmények között a szénforrást fermentálják; glükózból savat és alkoholt képeznek. Ezen családba sorolt baktériumok nagy számban fordulnak elő a környezetünkben, természetes vizeinkben és a humánpopuláció tevékenységeiként felszaporodó szennyvizekben. Ezenkívül az emberi és állati bélsatorna állandó lakói. Az enterobaktériumok potenciálisan humánpatogén voltukból következően rendszertanilag részletesen feldolgozott családnak tekinthetők. A patogének annyira kötődnek a gazdaszervezetükhöz, hogy a természetes vizeinkben és az átlagosan tiszta környezetben számuk elenyésző.

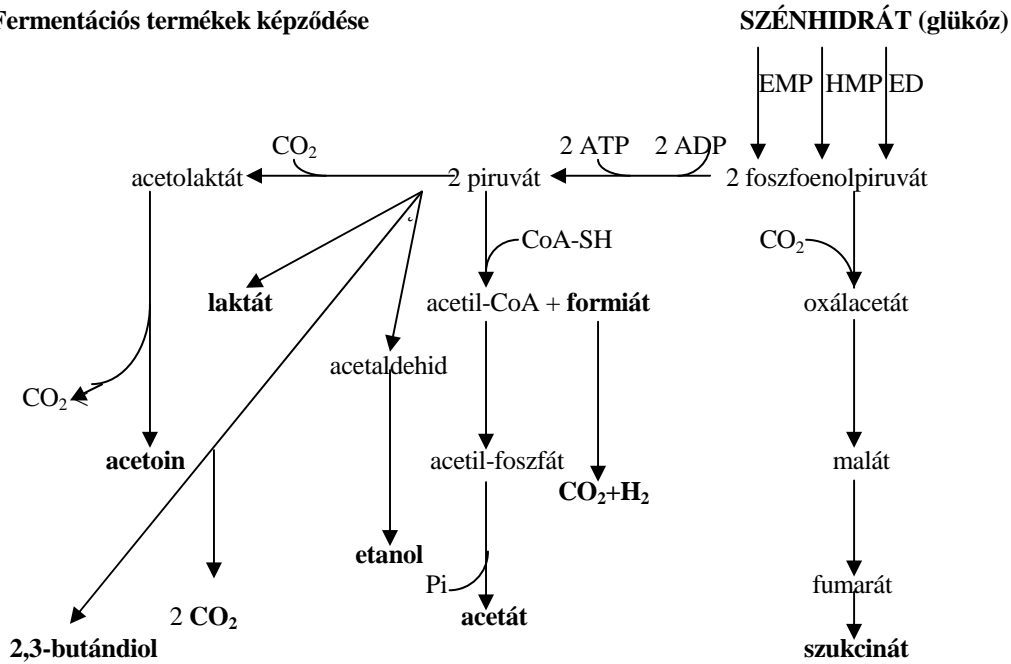
### Bélbaktériumok fermentációs termékei anaerob körülmények között

(100 mol glükózból képződött termék mol-ban megadva)

termék	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
H <sub>3</sub> C-CHOH-CHOH-CH <sub>3</sub>	0	66,5
H <sub>3</sub> C-HCH-OH	42	70,0
HOOC-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH	29	0,0
H <sub>3</sub> C-CHOH-COOH	84	3,0
H <sub>3</sub> C-COOH	44	0,5
HCOOH	2	18,0
H <sub>2</sub>	43	36,0
CO <sub>2</sub>	44	172,0

A fertőző fajok általában a jól fermentálók közül kerülnek ki, ami végeredményben érthető, hiszen a bélsatornában oxigénmentes körülmények között a fakultatív anaerob energianyerő folyamatot (fermentáció) hasznosítva szaporodnak.

## Fermentációs termékek képződése

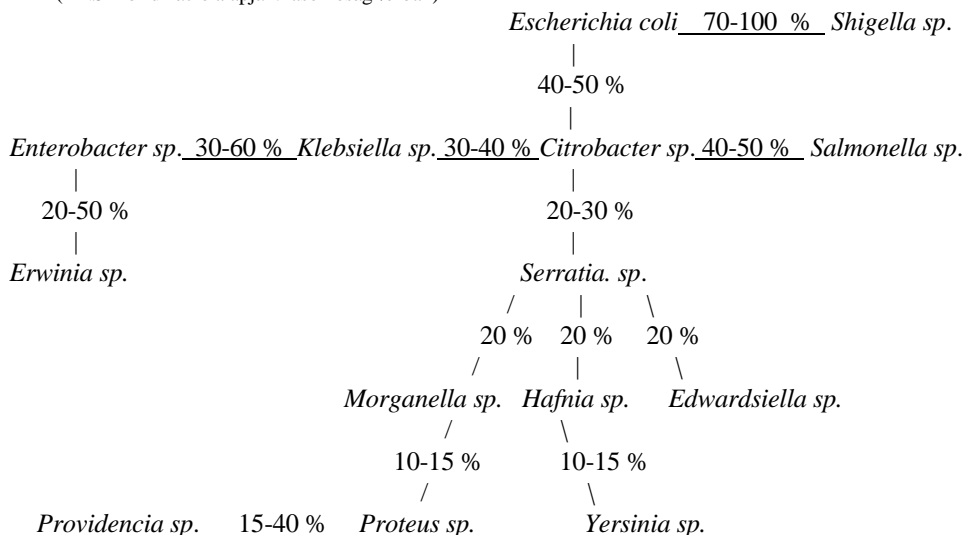


Az aerob és anaerob anyagcsere mértékére megbízható adatokat szolgáltat a Hugh Leifson's O-F (ox-ferm) táptalaj használata. Ez a táptalaj literenként 2 g peptont, 10g glükózt, 5 g nátriumkloridot, 0,3 g dikáliumhidrofoszfátot, 2 g agart és 0,25g fenolvörös indikátort tartalmaz. A beoltott táptalajok közül az egyik párhuzamos csoportra steril paraffin olajat reagezve oxigénszegény körülményeket teremthetünk. Néhány nap inkubálás után jól észlelhető a növekedésben jelentkező különbség és a savtermelő aktivitás eltérő értéke.

Elterjedt vizsgáló módszer a TSI (triple-sugar-iron) agaron való összehasonlítás. Ebben az esetben az anaerob párhuzamos tenyészetet mély agarba szúrják, az aerobot a felületre oltják. Ez a táptalaj 7,3 pH mellett literenként 2 g peptont, 5 g nátriumkloridot, 10 g laktózt, 10 g szacharózt, 2 g glükózt, 2 g nátriumtioszulfátot, 0,2 g ferriammóniumsulfátot, 0,25 g fenolvörös indikátort és 13 g agart tartalmaz. Ezen a táptalajon a savtermelést az indikátor sárga színe, a kénhidrogén-termelést a képződő vasszulfid feketesége, a széndioxid és hidrogén képződését a megjelenő buborékok és az agar dugóként való megemelkedése jelzik.

### *Enterobacteriaceae* család rokonsági kapcsolata

(DNS-hibridizáció alapján:hasonlóság %-ban)

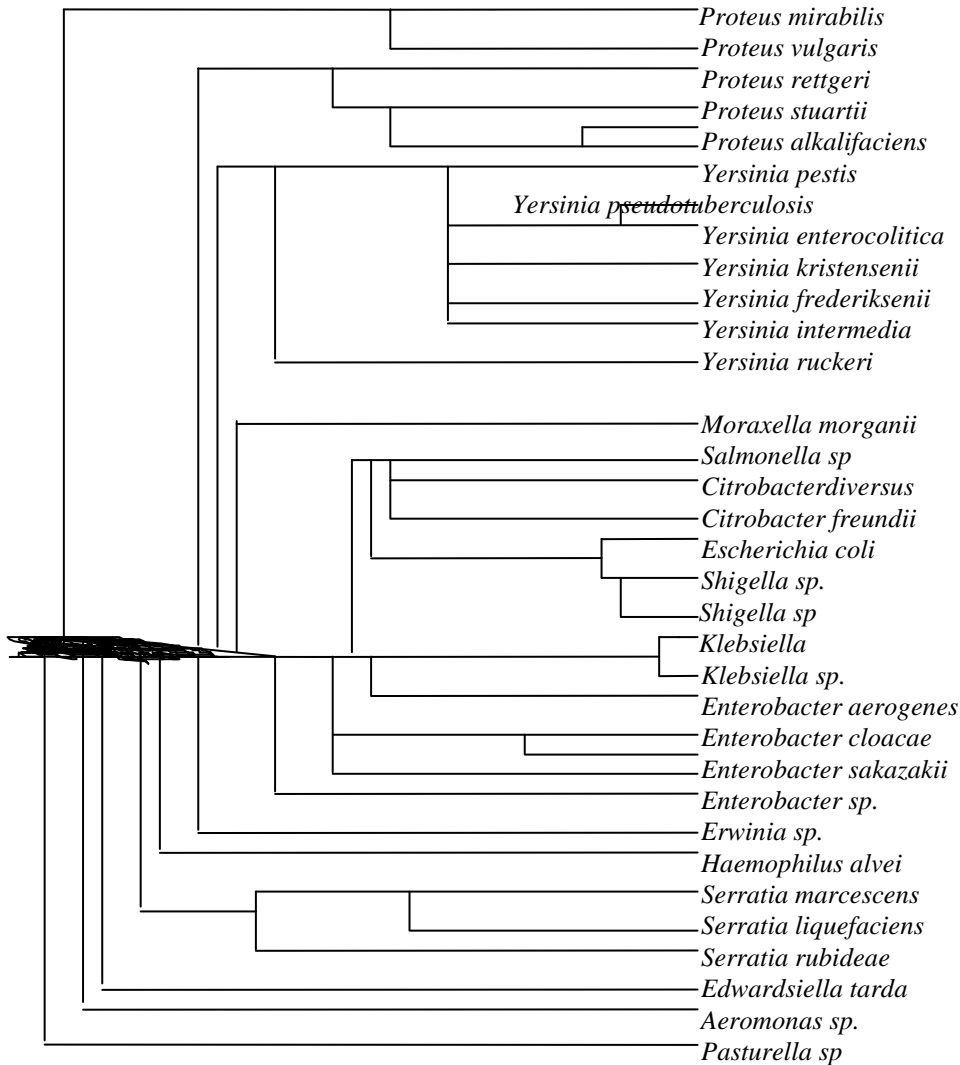


A törzsek rendszertani jellemzésekor vizsgálják még a citromsav hasznosítást, az ornitin- és lizin-dekarboxiláz aktivitását, a zselatinfolyósító képességet és

az arginint bontó aktivitást, a triptofánból való indolképzést, az ureáz aktivitást.

A *Klebsiella* genus elkülönítése céljából mérik az acetoin képzést (Voges-Proskauer próba), valamint a *Proteus* genus felismerése céljából a fenilalanin deamináz aktivitást. Az antibiotikumok széleskörű használata óta gyógyászati szempontból a törzsek jellemzésére felhasználják az antibiotikummal szemben megnyilvánuló érzékenységük mértékét. — A csoportba tartozó mikrobák rokoni kapcsolatát - a teljes maganyag összehasonlításával - DNS-hibridizáció alapján a hasonlóság százalékában lehet megadni. A PCR technika gyakorlatba vételével a riboszómális RNS (16S RNS) szekvencia összehasonlítása ma már rutin feladattá vált.

#### Rokonsági kapcsolat a 16S RNS komplementer szekvenciák hasonlósága alapján



A fertőző megbetegedések diagnosztizálása és a fertőző góccok, a bacillusgazdák felkutatása céljából az eddig ismertett módszereknél sokkal specifikusabb taxonómiai eljárásokat dolgoztak ki. Ez az újabb módszer a baktérium külső membránjának felépítésében észlelhető különbségeket hasonlítja össze. Ezek a genetikailag stabil különbségek ugyanis eltérő antigén szerkezetet képviselve szerológiai típusok elkülönítésére adnak lehetőséget. Az immunológiai módszer teljesítőképességét mutatja, hogy a vérhast okozó *Shigella* genus esetében a négy szerológiai alcsoporton belül további típusok elkülönítése lehetséges. A *Shigella dysenteriae* esetében 10, a *S. flexneri* esetében 6, a *S. boydii* esetében 15 szerológiai típus különböztethető meg. A *Salmonella enterica* esetében több mint ezer szerológiai típus különíthető el, ami nagy biztonságot jelent a fertőző góc (bacillusgazda) azonosításakor.

#### A családba tartozó szervezetek háromféle felületi antigénnel rendelkeznek;

Az egyik az ostor összetételére specifikus **H-antigén**, ami a német Hauch (lehelet) szóból származtatható. Ezek az ostoros baktériumok a táptalaj felszíne feletti üvegfelületre is képesek felkúszni és ott leheletszerű, vékony bevonatot képeznek. — A másik az **O-antigén**, a német ohne szó első betűjéből származtatható. Ez az antigén akkor érvényesül önállóan, ha a mikroba nem tartalmaz ostort. Ez az antigén a külső membrán lipopoliszacharid összetételében észlelhető különbségek miatt igen sok típus azonosítására ad lehetőséget. Ennek a szomatikus felületi antigénnek az érvényesülési lehetőségét befolyásolhatja a nagy mennyiségű ostor és pilus jelenléte. Ezért gyakran hőkezeléssel, illetve savas vagy alkoholos kezeléssel kell eltávolítani az akadályozó fehérje tömeget. A vizsgálandó minta ilyen előkészítése már lehetővé teszi az O-antigén tökéletes reakcióját a megfelelő antitesttel. A módszer

specifitását bizonyítja, hogy a *Salmonella newington* és a *S. anatum* ezzel a módszerrel jól elkülöníthetők, holott az eltérés a két törzs között mindössze annyi, hogy a külső membrán lipopoliszacharid oldalláncában a galaktóz-mannóz-rhamnóz triszacharid egységekben a galaktóz és a mannóz között az  $\alpha$ -glikozidos kötés helyett  $\beta$ -helyzetű kötés található (Robbins: Fed.Proc. 21:702 1962.) — A harmadik antigéncsoport ugyancsak felületi antigén, mégpedig a virulenciával, a fertőzőképességgel függ össze a kiváltott reakció. Ezért **Vi-antigén**nek, illetve a német Kapsel-re utalva **K-antigén**nek is nevezik. A patogenitás ugyanis összefügg a tok jelenlétével, annak méretével. A patogén baktériumok tokja akadályozza a falósejtek hatásos működését. — Tovább finomítható a módszer a fágokkal szembeni érzékenység, illetve a fágrezisztencia figyelembe vételével. A fág megtapadását biztosító fágreceptor olyan nagy mértékben specifikus, hogy az rendszerezés céljára használható. A fággal támadott baktériumsejt csak az esetben fertőződik (lizál), ha külső felületén a kiszemelt fág számára specifikus kötőhely (fágreceptor) jelen van.

A család legismertebb tagja az ***Escherichia coli*** (ATCC 11775). Nevével a neves mikrobiológusra emlékeztünk, fajneve pedig a fő előfordulási helyére utal. Természetes élőhelyeiről könnyen izolálható. Peritrich ostoros, rövid pálcá (0,5 x 2-3  $\mu$ m), amely gyakran a stacioner fázis végétől már mozdulatlan. Anyagcsere viszonyai, élettani viselkedése, genetikai térképe a legjobban felderített a mikroorganizmusok között. A vastagbélflóra állandó tagja, de az általánosan elterjedt vélekedéssel ellentétben abszolút mennyiségük normális körülmények között nem jelentős. Egy g széklet mindössze 10 millió *E. coli* sejtet tartalmaz. Ugyanakkor a bélflóra főtömegét kitevő *Bacterium fragilis* több mint ezerszer nagyobb mennyiségben fordul elő. Természetesen valamilyen beavatkozás, például antibiotikumok gyógyászati alkalmazása ezt a kedvező arányt rövid idő alatt radikálisan megváltoztathatja. A vizeletkiválasztó rendszerben is előfordul. A vesemedence, az epevezeték, a vakbél és a hashártya gyulladással okozhatja. Plazmidhoz kötött információ alapján hőstabil enterotoxint termel. Az uropatogén törzsekben az alfa-hemolizin operonban előforduló négy gén ismert a toxicitás sorrendjében  $hlyC > hlyA > hlyB > hlyD$ . A *hlyA* toxikus fehérje a vesetubulussejtek membránját károsítja. A *hlyC* gén terméke acilezi, azaz aktíválja a hemolizint. Léküzdésükre az aminoglikozid antibiotikumok eredménnyel használhatók. A szerves anyagban gazdag vizekben, háztartási szennyvízzel fertőzött talajvízben feldúsul, ezért járványügyi szempontból a *coli*-számot az ivóvíz valószínű fertőzöttségének a jelzésére, a víz minősítésére is használják. Járványügyi okokból a szerológiai tipizálása is megtörtént: Több mint 150 különböző O-antigén típusuk ismert. A H-antigén szerint 50 féle, a K-antigén szerint 90 féle szerotípusuk különböztethető meg.

Az ***Escherichia coli* K-12** jelű törzs a mikrobiológiai, biokémiai és géntechnológiai munkák kedvelt kísérleti alanya, annak ellenére, hogy végeredményben potenciálisan patogén szervezetnek tekinthető. Eredetileg 1922-ben izolálták egy diftériából gyógyult páciens székletéből. A törzset a Stanford Egyetem bakteriológiai tanszékén a hallgatói laboratóriumban gyakorlatokhoz használták. A negyvenes évektől kezdve Tatum és Lederberg munkáival elindult molekuláris biológiai kutatások alanyaként került a biológiai kutatások élvonalába (J. Bacteriol. 53:673-84 1947). A belőle származó sok ezer hiánymutánssal szerzett adatok, a temperált  $\lambda$ -fággal való fertőzhetősége, valinérzékenysége, világszerte ismertté tette nevét. Az első géntechnológiai eredmények is ezzel a törzssel végzett kísérletekben születtek. Frederick R. Blattner és munkatársai - hat évi kutatómunkával - az eredeti törzs mutagén kezelésben nem részesült vonalából származó MG1655 számú törzs teljes genomjának (4288 fehérjét kodoló 4,639,221 bp.) szekvenálását elvégezték (Science 277:1453.1997). A fehérjék 38 %-nak az élettani tevékenysége ismeretlen.

*Citrobacter* (régbben *Escherichia*) *freundii*. A normál féceszben is megtalálható; a vizeletkiválasztó apparátusban és különféle gyulladással járó folyamatokban igazolták jelenlétét.

Az *Enterobacter cloacae* azelőtt *Aerobacter cloacae*, mozgékony polirezisztens pálcika. Előfordul a szennyvizekben, talajban, tejtermékekben és a bélcsatornában. Kórházakban 2. fokos másodlagos fertőzést.

Az *Edwardsiella tarda*, akut gastroenteritisben veszedelmes szepikus fertőzést okozhat. 49 különböző O-antigénjét és 28 H-antigénjét ismeri a szakirodalom.

A ***Salmonella* nemzetség** tagjai peritrich csillós rövid (0,5-0,8 x 1-3,5  $\mu$ m) pálcikák. Biokémiai és baktériumfiziológiai szempontból a kapott eredmények az *Escherichia coli*-val nyert adatokkal egyeznek. Patológiai alapon két csoportba sorolhatók. — Az egyik csoport generalizált fertőzést okoz. Ide tartozik a *Salmonella typhi* és a *Salmonella paratyphi* által okozott megbetegedés. A kórokozó szájon keresztül kerül a szervezetbe, majd a vékonybél hámlásán keresztül a monociták közvetítésével jut a mesenterialis nyirok-csomókba, ahol elszaporodva a ductus thoracicus-on keresztül kerül a véráramba, a lépbe és a májba ahol tovább szaporodik. Gyógyulás esetén tartós immunitás marad vissza. — A nyári hónapokra jellemzően évente megjelenő bélfertőzések (fagyaltmérgezés) és ételmérgezések zömét a *Salmonella enterica* (*typhimurium*) okozza. Rendszertani szempontból 50 szerocsoporton belül több mint 1200 szerotípusokról tudósít az irodalom. A fertőzött étel elfogyasztása után néhány órával már jelentkeznek a tünetek; a bélfalban széteső baktériumokból kiszabaduló endotoxin magas lázzal járó hányást, hasmenést, kiszáradást okoz. A beteg gyógyulás után is hosszabb ideig tünetmentesen bacillusgazda, bacillusürítő marad. Ez a mikroorganizmus nehezebben jut át az emberi bélfalon, ezért nem alakulhat ki ellene immunitás - a fehéregér bélfalán viszont áthatol - innen a neve (Mus=éger).

A *Shigella* nemzetség tagjai igen ellenálló, vérhast okozó, tok és csilló nélküli (0,5-0,7 x 2-3 µm) pálcikák. A folyóvizekbe került baktérium hónapokig megőrzi fertőzőképességét.

A *Shigella dysenteriae* valódi toxint termelő humánpatogén mikroorganizmus. A hőérzékeny toxinja a központi idegrendszeret károsítja. A vastagbélben elszaporodva, annak fekélyesedését okozza, ezért véres a széklet. Gyógyulás után a beteg hosszabb ideig baktériumürítő marad. Tudománytörténeti érdekesség, hogy ennél a mikroorganizmusnál észlelték először a rezisztencia faktornak (R-faktor) elnevezett, fertőzőképes extrakromoszomális részecske hatását. Az R-faktornak tulajdonították a polirezisztencia olyan baktériumokban való megjelenését, amelyek antibiotikummal előzőleg sohasem találkoztak.

*Klebsiella pneumoniae*. Vaskos, rövid (0,5-1 x 1-2 µm), tokos, endotoxint termelő pálcikák. Kis számban az egészséges személyek légzőrendszerében és székletében is megtalálható. O- és K-antigénjük alapján 79 szerotípusukról tudósít a szakirodalom. Kóros esetben a tüdőben elszaporodva 50 %-ban halálos nekrotizáló tüdőgyulladást okoz. — A *K. pneumoniae* az utóbbi idők géntechnológiai eredményeinek egyik nevezetes szereplője. Ebből az organizmusból a pRD1 plazmid és az EcoRI valamint a HindIII restriktív enzimek segítségével klónozták a nitrogénfixálásban résztvevő enzimek génjeit (hét operonban található 15 enzim), az úgynevezett *nif*-régión. Ezt követően a két HindIII-mal kiemelt szakaszt - ami a teljes *nif* tartományt tartalmazta - a pACYC184 vektorban egyesítve juttatták az *Escherichia coli*-ból származó mini-sejtbe, ahol a plazmidon levő információ kifejeződött és megindult a nitrogénfixálás energiaigényes folyamata.

A *Yersinia pestis* évszázadokon keresztül periodikusan megjelenő járványok keretében ritkította Európa lakosságát. A fekete halál kórokozóját 1884-ben Yersin izolálta Hong-Kongban. A véráramba került baktérium a nyirokcsomókba húzódik. Néhány nap lappangási idő után jelennek meg a tünetek, ami a bubo pestis esetében 50-70 %-ban, a tüdőpestis esetében 100 %-ban halálos kimenetelű. — A bacillusgazda ez esetben az immunológiailag védett patkány, amiről a bolha (*Xenopsylla cheopis*) viszi át az emberre a virulens baktériumot. Ember és ember között a *Pulex irritans* közvetít. A civilizáció terjedése, és a patkányirtás ezt a félelmetes kórt visszaszorította.

A normál bélflórában megtalálható *Proteus vulgaris* változó formában megjelenő (polimorf), laktóz-negatív, feltűnően mozgékony baktérium a fenilalanint is képes dezaminálni. Agar táptalajra oltva rövid idő alatt a rendelkezésre álló felületet benövi. Nevét a változó alakban megjelenő görög istenre emlékezve nyerte. A vizelet-kiválasztó rendszer súlyos fertőzését okozhatja. Másodlagos fertőzésként egyéb fertőzések leküzdése céljából folytatott antibiotikum-kezelést követően hashártyagyulladást, középfülgyulladást, tüdőgangrénát okozhat. Az *E. coli* és a *Proteus* fajokban található hemolizáló operon 80-85 %-os homológiát mutat — Feltűnően erős proteolitikus hatása különböző rothasztó folyamatokat képes elindítani. (A bulvárlapok címlapjára "húsevő baktérium" néven került). A kiemelkedően nagy oxigénigénye miatt a táptalajok felszínén, lepedék formájában növekedve a tápközegben kedvező körülményeket teremt a szigorúan anaerob folyamatok számára.

A *Proteus mirabilis* az agarfelületen lassabban terjed. A *Providencia* fajok csupán az ureáz aktivitás hiányában különböznek a *Proteus* nemzetség tagjaitól. — A csoport növénypatogén tagjai a növények felületén az epifita flóra alkotóelemeiként fordulnak elő. Az idesorolt törzseket Erwin F. Smithre emlékeztetve *Erwinia* genus-ba sorolták. A fajok nagyfokú gazdaspecifitást mutatnak: *Erwinia amylovora* leginkább a *Rosaceae* családba sorolt *Pomoideae* alcsalád fajait sújtja tüzelhalást okozva. Károkozásáról az első írásos feljegyzés 1793-ból származik. (Berkenye galagonya, birs, körte, alma, naspolya, Amerikában már a málna és szeder ültetvényeken is megjelent.) A széljárással, madarak ürülékével, de virágporzást végző rovarok is elősegítik terjedését. A fekélyekben áttelelő tavasszal aktíváló baktérium által termelt nyálka a virágnyélen, a csészeleveleken jelenik meg először, majd a fiatal hajtásokat elfonnyasztja. Hazánkba a mediterrán területekről a Balkánról terjedve jelent meg. A *Rosaceae* család keményítőt bontó kórokozójaként a homogén állományú gyümölcsösök (alma és körte) gyors pusztulását okozva gyorsan terjedő, szinte leküzdhetetlen fertőzésnek tűnik. Az *E. herbicola* a növények sérült részein élve károsítja a gazdaszervezetet. Az *E. carotovora* különös előszeretettel támadja a burgonyát.

## VIBRIONACEAE

A család tagjai monotrich ostoros, hajlított, vékony (0,3 x 1-5 µm) pálcikák. Általában egyesével, de osztódáskor párosával, S-alakban fordulnak elő. Legismertebb fajuk a kolera kórokozója, a *Vibrio comma*, amelyet fertőzött ivóvíz, illetve fertőzött ételek terjesztenek. Az egészséges ember fertőzéséhez viszonylag nagy mennyiségű (közel egy milliárd) virulens baktériumsejt szükséges. Gyomorsavhiányos állapotban viszont már tízezer virulens baktérium is megbetegedést okozhat. A kórokozó különösen érzékeny a tetraciklin típusú antibiotikumokra. Az utóbbi idők kolera-járványait a hemolizáló tulajdonságú *Vibrio* El-Tor biotípus okozza. Az általa termelt mucináz a bélnyálkahártya nyákrétegét bontja. A Cholera toxin nevű, 90 kDa méretű exotoxinja aktiválja az adenilcikláz és ezzel a cAMP-koncentrációt növelve megváltoztatja a bélfal permeabilitását. Az így előálló híg hasmenés napi 10-15 liter vízvesztést jelent. Ebből következik, hogy egyszerű infúzióval a közel 60 %-os halálozási arányt 1 % alá lehet szorítani. A betegség szerencsés lezajlása után a gyógyult személy hosszú ideig baktériumürítő marad!

Rendszertanilag ide sorolnak néhány technológiai, illetve gyakorlati szempontból érdekes mikroorganizmust:

A *Zymomonas mobilis* alkoholtermelésre kiválóan használható baktérium, mivel a szénhidrátlebontás az Entner-Dudoroff úton folyik. Két alkohol képződése csupán egy ATP-t szolgáltat. A mikroba energiaigényének kielégítése céljából több hexózt kényszerül lebontani, azaz több etanolt állít elő, mint az EMP-utat használó szervezetek.

Az *Aeromonas sp.* (ATCC 7966) a szénhidrátot hidrogént termelve fermentálja széndioxiddá. KCN jelenlétében is szaporodik.

A *Flavobacterium sp.* sárga pigmentet termelő, talajlakó pálcika, potenciálisan patogén. Oxidáló képességét ipari eljárásokban hasznosítják. A fermentáló képessége feltűnően gyenge.

A *Serratia marcescens* ártalmatlan szaprofita, amely a tenyészkörülményekől függően vörös pigmentet (prodigiosin)termel.

A *Photobacterium phosphoreum* (ATCC 11040) fényt kibocsájtó, a *Lucibacterium harvey* (ATCC 14126) fényt termelő szervezet.

A *Xenorrhhabdus nematophilus* a Neoplectana fonálféreg béltraktusában, a gazdájával szimbiotikus kapcsolatban él. A *Photorhabdus luminescens* a Heterorhabdus entomopatogén fonálféreg szimbiontája.

## GRAM NEGATÍV ANAEROB PÁLCÁK és KOKKUSZOK

Kevésbé feldolgozott, heterogén csoportot alkotnak az emberi és állati bélcsatornában élő, általában mozgásképtelen, kemoorganotróf, obligát anaerob "valódi" baktériumok. A valódi jelzővel itt a sejtburkok foszfolipid építőelemeit és a peptidoglikán sejtfal jelenlétét kívánom hangsúlyozni. [A bélcsatornában és a bendőben kialakuló ökoszisztéma tagjai között ugyanis nagy számban megtalálhatók az ősbaktériumok képviselői és a protozoák valamint a gombák ide szakosodott példányai is. Biokémiai felépítésük és anyagcsere viszonyaik eltérő volta rendszertani szempontból markánsan elkülönítik a két csoportot.] — A bélcsatorna anaerob baktériumai a mukozamembrán parazitáiként nagy tömegükkel egyszerűen kiszorítják a bélben előforduló *Salmonella* fajokat az élettérből. Általában érzékenyek az antibiotikumokra. Ezért a fellépő egyéb fertőző betegség leküzdése céljából adott antibiotikum a bélflóra természetes összetételét jelentős mértékben megváltoztathatja. — A bélflóra összetételének a vizsgálata nehéz feladat, mert a légköri oxigénnel való néhány perces érintkezés ezeknek a baktériumoknak a többségét elpusztítja és ily módon alapjaiban megváltoztatja a minta bakteriológiai összetételét. A valós képet jobban megközelítő eredményt kaphatunk a kivett minta közvetlen fixálásával és festésével nyert készítmény mikroszkópos vizsgálatával.

A *Bacteroides* genus tagjai potenciálisan patogének, gáztermelők, jellegzetes illatanyagokat termelnek. Glükózból borostyánkősavat, propionsavat, vajsavat, tejsavat, ecetsavat és hangyasavat fermentálnak. A kérődzők bendőjében fontos szerepet játszanak a cellulóz hasznosításában. A rendszertani vizsgálatok több mint 20 fajuk létezését igazolják. Sebészeti beavatkozás után a széteső szövet kedvező környezetet jelent számukra. A vérpályába kerülve anaerob bakterémiát okozhatnak. Ezért a létszámuk drasztikus csökkentése indokolt a műtét előtti antibiotikum kezeléssel. A helyes diagnózis kialakítása szempontjából tudatában kell lennünk, hogy igen nehezen tenyésztethetők és a helytelen mintavétel durván meghamisíthatja a kapott eredményt.

A *Bacteroides fragilis* a fécesz főtömegét alkotja. A legtöbb antibiotikumra rezisztens, pleomorf pálcika. Az epe serkenti a növekedését.

A *Bacteroides melaninogenicus* (ATCC 8482, 8483, 8492) kokkoid alakú, auxotróf törzs; hemint, menadiont és K-3 vitamint igényel a növekedéshez. Kevert ferőzéseket okozhat. Barna, illetve fekete pigmentet választ ki a táptalajba. Penicillinre érzékeny. Az epe gátolja a növekedésüket. Fontos szerepet lát el a cellulóz hasznosításakor. A *Bacteroides succinogenes* igen erős cellulózbontó képességével hívja fel magára a kutatók figyelmét.

A *Fusobacterium* genus fajai csúcsban végződő pálcikák. Fertőzést ritkán okoznak. Glükózból vajsavat, széndioxidot és hidrogént fermentálnak. Kloramfenikol és klindamicin hatásos ellenük. *Fusobacterium nucleatum* hegyes csúcsban végződő, karcsú pálcika. *F. necrophorum*, *F. funduliformis* pleomorf alakú (Bact. Rev. 23:4125. 1959; Bact. Rev. 30:732. 1966) szervezetek.

A *Butyrovibrio* és *Succinovibrio* mozgékony, görbült pálcák; a bendőben a cellulóz bontását végzik.

A *Desulfovibrio* sp. mozgékony, egyostoros görbült pálcika. Szigorúan anaerob kemo-heterotrófok. A trikarbonsav-ciklusuk nem működik. Az anaerob elektronátvitelben egy citokrom-c-hez hasonló, különleges hem fehérje vesz részt. Színes fehérjeként a desulfoviridint is izolálták belőle, szerepét azonban eddig nem sikerült felderíteni. A szulfátredukció termékeként megjelenő kénhidrogén okozza a szennyezett vizek korrozív hatását és bűzös illatát.

A *Selenomonas* fajok mozgékony, holdsarlóra emlékeztető, hajlott pálcikák. Az ostoruk (kb. 16) a konkáv oldal közepéről ered. Osztódáskor is itt válik ketté a növekedő sejt. Emlősök bélcsatornájában és szennyezett folyóvizekben fordulnak elő. Glükózból propionsavat és ecetsavat fermentálnak.

A *Megasphaera elsdenii* fajneve első izolálójára (S. R. Elsdén) emlékeztet. A genus név a görög *μεγας* nagy és *σφαιρα* gömb alakú szavak összetétele. A bendőben előforduló nagyméretű (2-3  $\mu\text{m}$ ) szénhidrátokat fermentáló hidrogéntermelő kokkus.

Az *Acidaminococcus fermentans* hidrogént és széndioxidot tartalmazó légkörben jó növekedést mutat. A Krebs-ciklus savait nem képes hasznosítani, a nátrium-glutamát viszont serkenti a növekedését, miközben széndioxidot állít elő belőle.

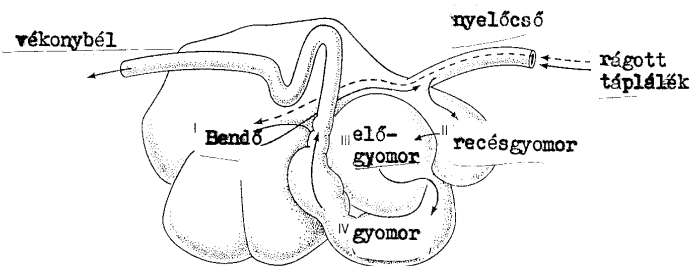
A *Veillonella alcalescens* A. Veillon francia bakteriológusról nevezték el. Ezek a kisméretű (0,3-0,5  $\mu\text{m}$ ) kokkusok a garat és a női genitáliák lakói, de a bélflórában is megtalálhatók, sőt endocarditis kórokozójaként is leírták. Penicillinre, erythromycinre érzékeny, aminoglikozid antibiotikumokkal szemben rezisztens. Szénhidrátot nem fermentál; szukcinátból dekarboxilezéssel propionsavat képez.

A felsorolt szervezetek természetes élőhelye a kérődzők (szarvasmarha, juh, gazella, gnu, viziló, teve, stb) emésztőcsatornájának különleges feladatot teljesítő szakaszai, a recés gyomor, a leveles gyomor, az oltógyomor, elsősorban az emésztendő anyag tárolására szolgáló bendő. Az előemésztett anyag felbőfögve a kérődzés folyamatában ismételt rágás után kerül a felsorolt gyomor üregekbe, ahonnan továbbjutva a vékonybél, vakbél és utóbél segíti a növényi táplálék optimális hasznosulását. Technológiai szemlélettel egy különleges négylábbon járó anaerob folytonosan működő fermentornak tekinthetjük, amelyben a megrágott növényi részek hosszabb ideig tartózkodva, az ott kialakult kölcsönösen egymást segítő szervezetekből kialakuló (protozoa, moszatgomba és baktérium) bendőlakó életközösség (ökoszisztéma) általában 80 óra emésztési idő alatt felhasználhatóvá teszi a gazdaállat számára a növényvilág vízben oldható építőelemeit.

A bendőtartalom fáziszkontraszt mikroszkóppal való vizsgálata méretben a baktériumoknál nagyobb, de a protozoáknál kisebb méretű ostorral rendelkező lényekre hívta fel a figyelmet. Századunk első felében *Callimastix Oikomonas*, *Spheromonas* nemzetségeként említették őket a bendő mikrovilágát leíró mikrobiológusok. A hetvenes években folytatott részletes vizsgálatuk, ultrastruktúrájuk elektronmikroszkópos felderítése erősítette a szakvéleményt, miszerint ezek a lények valójában mitokondriumukat elvesztett moszatgombák egy vagy többostoros zoospórái. Később az ostoraikat elvesztve aktív rész vállalnak a bendőben folyó növényi részek hasznosításában. Rendszertanilag a Chytridiomycetozoa anaerob változataiként tárgyalhatók *Neocallimastix*, *Spheromonas*, *Piromyces* nemzetségek tagjaiként. Az ostoros spórákat termelő sporangiumok rhizoidjaikkal a tápcsatorna falához, vagy a bendőbe került növényi rostokhoz kapcsolódva fejlődnek ki. Az energianyerés célját szolgáló ferredoxint tartalmazó mikrotesticcskéik (hidrogenozómák) hidrogént és széndioxidot termelnek. — Az emésztő rendszer flórája és faunája nem csak a kérődzők által elfogyasztott növények vízben oldhatatlan alkotórészeinek, például a cellulóznak a hasznosítását teszi lehetővé, de a kérődző állat fehérjeszintéziséhez szüksége esszenciális aminosavakat is szolgáltatja. A szarvasmarhában kialakuló bendő közel 100 liter térfogatú, állandó hőmérsékletű, természetes reaktor, amelyben a gazdaállattól származó proteázokon kívül a foszfátokban és hidrokarbonátban gazdag nyál képződése, valamint a feldolgozandó tápanyag utánpótlása és a fermentált termék eltávolítása optimálisan megoldott.

A bendőbe került cellulóz, keményítő, hemicellulóz és pektin, állandó metánképződés mellett rövid szénláncú zsírsavak (vajsav, propionsav, ecetsav) formájában felszívódva szén- és energiaforrásként hasznosulhat. (57,5 mol hexózból gyakorlatilag 65 mol acetát, 20 mol propionát, 15 mol vajsav, 60 mol széndioxid, 35 mol metán, és 25 mol víz képződik!)

A baktérium tömegnek csupán huszad része hasznosítja képességeit cellulózbontásra. A cellulóz lebontását végző valódi baktériumok a fermentációs folyamat első szakaszában hidrogént és széndioxidot képeznek, amelyet az életközösség ősbaktériumai alakítanak metán gázzá. Ez naponta 60-80 liter



gáz képződését jelenti, amelyet végül a kérődző a környezetbe böfög. (A metánképződés folyamatát gátló anyagok, például kloroform, bendőbe juttatása esetén a kérődző hidrogént böfög a környezetébe.) A gáztermelés egyébként a bendő tartalmának a keveredését segítve megakadályozza annak összetömörödését. A bendőben élő szervezetek a kérődzők fejlődéséhez nélkülözhetetlen esszenciális és nem esszenciális aminosavakat, vitaminokat és növekedési faktorokat kellő mennyiségben szolgáltatják a gazdaszervezet számára. A nitrogénforrásként karbamiddal dúsított széna ilyen módon a tejtermelő gazdaságok tehénállománya számára teljes értékű tápanyagként szolgál. A kiegyensúlyozott helyzetet természetesen minden külső beavatkozás, gyógyszeres kezelés, a tápanyaggal bejutó növényvédőszer, illetve környezetszennyező mérgező anyag jelentős mértékben zavarhatja.

#### A bendőben élő fontosabb szervezetek és termékeik:

*Bacteroides amylophilus*  
*Bacteroides rumenicola*  
*Selenomonas ruminantium*  
*Succinomonas amylolytica*  
*Streptococcus bovis*

keményítóből  
 formát, acetát, szukcinát  
 formát, acetát, szukcinát  
 acetát, propionát, laktát  
 acetát, propionát, laktát  
 laktát

*Bacteroides succinogenes*  
*Butyrivibrio fibrisolvens*  
*Ruminococcus albus*  
*Clostridium lochheadii*

cellulózból  
 szukcinát, acetát, formát  
 acetát, formát, laktát, butirát, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>  
 acetát, formát, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>  
 acetát, formát, butirát, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>

*Lachnospira multiparus*

pektinből  
 acetát, formát, butirát, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>

*Selenomonas lactilytica*  
*Peptostreptococcus elsdenii*

laktátból  
 szukcinát, acetát  
 acetát, butirát, valerát, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, propionát

*Methanobrevibacter ruminantium*

#### hidrogén és szén-dioxid gázból

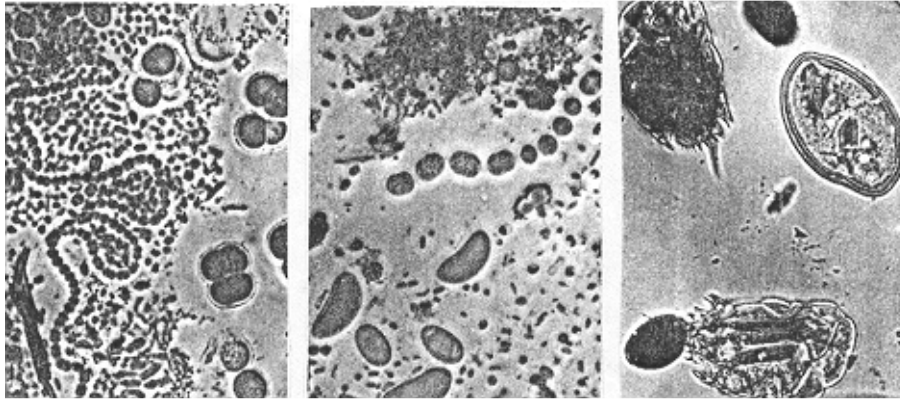
metán

*Veillonella alcalescens*

#### szukcinátból

propionát

### A bendő flórája és faunája látható fényben



Hasonló baktérium flóra teljesíti feladatát az úgynevezett külső kérődzők, a hátsó fermentálók vakbelében és utóbelében. (ló, zebra, szamár, üregi nyúl, patkány stb). Itt az emésztőcsatornában töltött idő nem haladja meg a 48 órát. A cellulóz lebontás határfoka rosszabb mint a kérődzőknél. Három üregi nyúl lényegesen több növényi táplálékot fogyaszt mint egy súlyban nagyobb juh annak ellenére, hogy az emésztés első terméke, az úgynevezett lágy széklet bekebelezve másodszer is végig halad az emésztő rendszerén. A nyulak általában este illetve éjjel legelik a növényt, majd napi ritmusban a délelőtt megjelenő lágyszékletet (cőkof) fogyasztják.

A hosszú idő alatt kialakult életközösség tagjai nagyfokú egymásra utaltságban élnek. Például az ősbaktériumok számára a hidrogéntermelők alakítják ki az életteret. A bendőből izolált oligo (*Diplodinium*, *Entodinium*, *Epidinium*, *Metadinium*, *Ophryoscolex*) és holotrich ciliáták (*Isotricha*, *Dasytricha*) általában axénikusan nem is tenyészthetők, valójában a bendő baktérium flórájának aktív predátorai. Közülük a *Diplodinium* és a *Metadinium* a cellulóz- emésztésben, az *Entodinium* és a *Epidinium* pedig a keményítőhasznosításban érdekeltek.

### SZIGORÚAN ANAEROB GRAM-POZITÍV KOKKUSZOK

Gram-pozitív tok és csilló nélküli obligát anaerob mikrobák. Természetes élőhelyükön egyesével, párban vagy láncba rendeződve találhatók. Glükózból tejsavat erjesztenek. — A *Peptococcus* és *Peptostreptococcus* fajok az emberi bélrendszer normál flórájának elemei. Egyes esetekben gyulladási folyamatokban vehetnek részt. Ilyenkor a penicillin és származékai hatásosak ellenük. — Kérődzők bendőjében a *Ruminococcus*, *Ruminosarcina* fajok tenyésznek, a cellulózbontó társulás aktív tagjaiként.

## GRAM-POZITÍV KOKKUSZOK ÉS ASPOROGÉN PÁLCÁK

A csoportot aerob és anaerob körülmények között növekedő kokkuszok alkotják, amelyek egyedül, párosával, láncba rendeződve, esetleg csoportot alkotva találhatóak a természetes élőhelyeiken

### MICROCOCCACEAE

A család tagjai erősen pigmentáltak. Nevüket a görög μικροσ kicsiny és kokkos gömb alakú szavak összevonásával nyerték. A *Micrococcus* genus legismertebb képviselője a *Micrococcus luteus* (ATCC 4698), régebbi nevén *Sarcina flava*. Gömb alakú sejtjei (2 µm) egyedül vagy párban, gyakran tetrád alakban fordulnak elő. Talajból, vizéből, az emberi bőrről is izolálható ez az apatogén faj. Sárga színű, matt felszínű telepeket képez az agar táptalaj felületén. Általános előfordulása, igénytelensége és gyors fejlődése miatt gyakran találkozhat vele a mikrobiológus mint a laboratóriumi munkáit fertőző, nem kívánt idegennel.

Patogenitás szempontjából a család legismertebb nemzetsége a *Staphylococcus*, amelyet gennyek sebekből R. Koch izolált először. Nevét a σταφυλη szőlőfürtszerű sejtcsoportjairól kapta. Pasteur tenyésztette ki 1880-ban, a patogenitását pedig Ogston igazolta állatkísérletekkel. Rosenbach 1884-ben két fajtát különböztette meg; az erősebben patogén *S. aureus* és a gyengébb patogenitást mutató *S. albus* néven. A telepek színe az aranyárgától a vajsárgáig változhat aszerint, hogy a két pigment a δ-karotin és a sarcina-xantin milyen arányban képződik. A klinikai anyagban való gyakori előfordulásuk és patogén tulajdonságaik miatt a *Staphylococcus* nemzetség biológiáját részletesen tanulmányozták. A sejtfaluk felépítését Ghuysen és Strominger a 60-as években részletesen vizsgálták. Eredményeiket minden általános mikrobiológiai tankönyv a Gram-pozitív sejtfal felépítése és a falszintézis, valamint a penicillin hatásmód tisztázásának példájaként részletesen ismerteti. Mikroszkópi képen a 0,6 µm átmérőjű kokkuszokat szőlőfürtszerű elrendezésben látjuk. A szénhidrátokból savat fermentálnak. A patogén törzsek a mannitot is képesek erjeszteni. Véres agaron jól látható hemolitikus udvart hoznak létre. A patogén törzsek ellenállóképessége jelentős mértékű. A beszáradt gennyben például hónapokig fertőzőképes marad. Definiált összetételű táptalajon nikotinsav és tiamin kiegészítéssel széles pH-tartományban képes növekedni. Az élő szervezetben való gyors elszaporodásukat az általuk termelt enzimek segítik;

**Hialuronidáz** a bejutó baktérium szétterjedését segíti elő azáltal, hogy a kötőszövetben levő hialuronsavat (glükuronsav-N-acetil glükózamin kopolimer) hasítja.

**Kollagenáz** a kollagén rostokat lazításával az előbbihez hasonló hatást vált ki.

**Staphylokináz** a vérben levő plazminogén aktiválásával fokozza a fibrinolízist. Vérrögoldó hatását a klinikai gyakorlatban hasznosítják.

**Koaguláz** hatás a kialakult gyulladós folyamat lokalizációját eredményezi. A baktérium valójában egy inaktív proenzimet termel, amit a vérplazma aktivál, majd az aktivált enzim hatására indul meg a fibrin kicsapódása.

**Lipolitikus enzimeket** is termelnek, amely a bőrt védő lipidréteget károsítja. Az általuk termelt **leucocidin-S** és -F fehérje szelektíven a leukocitákat, illetve a makrofágokat károsítja.

Négyféle **hemolizint** termel, amelyek közül az α-hemolizin a vértetek összecsapódását okozza; a δ-hemolizin foszfolipáz aktivitása is toxikus a leukociták számára.

Patogenitásukat az általuk termelt hőstabil enterotoxinok okozzák. A hemolizin-termelést és az enterotoxin képződését temperált fág közvetíti. Így fágfertőzéssel adott esetben a nem patogén törzsek is toxintermelővé válhatnak. A fertőzést okozó törzsek több mint fele penicillinázt termel, ezért csak olyan penicillin származék használható sikerrel a gyógyászatban, amelyiket a penicillináz nem képes elbontani. Természetesen ezekkel szemben is kialakulhat rezisztencia. Így izoláltak meticillinre rezisztens *Staphylococcus* törzseket is, amelyeknek a membrán felépítése és a peptidoglikán sejtfaluk vastagsága is eltér a vad törzsnél talált értéktől.

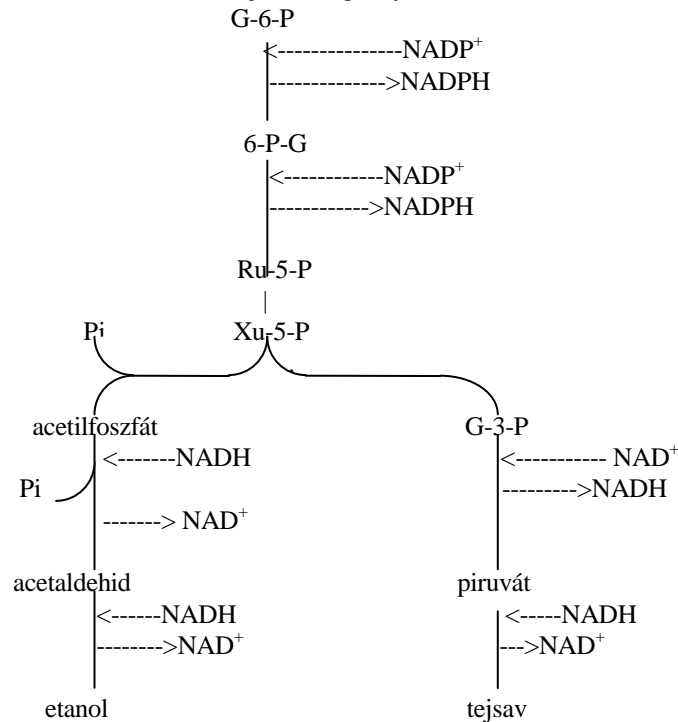
### STREPTOCOCCACEAE

A család tagjai közül, legismertebb faj a *Streptococcus pneumoniae*, régebben *Diplococcus pneumoniae* vagy röviden *Pneumococcus*. Ezt a fakultatív anaerob diplokokkuszot 1881-ben izolálta Pasteur Franciaországban és Sternberg az USA-ban. Nemcsak kórokozó mivolta keltheti fel a figyelmünket, de tudománytörténeti szempontból is érdekes, mert Griffith 1928-ban végzett kísérletével, - ha nem is tudatosan - a molekuláris biológia első kísérleti alanyává tette ezt a törzset. A lándzsafej alakú (1 µm) diplokokkuszot cellobiouronsav egységekből (1,3-β-D-glükuronsav-1,4-β-glükóz) felépülő poliszacharid tok veszi körül. Ez a tok 10 % szén-dioxidot tartalmazó légkörben fejlődik legjobban. A tok képződése a sejtosztódás logaritmusos fázisában a legintenzívebb. Ilyenkor a tápközegben is megjelenik a tokpoliszacharid hosszabb-rövidebb oligomerek formájában. Ezek a poliszacharidok nem toxikusak, de a tokellenanyagot képes inaktíválni, sőt a már megkötött ellenanyagot is lemozdíthatja az antigénről. A tok megvédi a baktériumot a fagociták támadásával szemben. Ezért nem meglepő, hogy a toknélküli variáns apatogénként ismert a klinikai gyakorlatban. Ez a mikroba szolgáltatta az első adatot a poliszacharid immunogén tulajdonságára. (Addig a fehérjét tartották immunogénnek.) A kapszula-poliszacharid az ellenanyaggal találkozáva irreverzibilisen megdagad. A tok térfogatnövekedése tokpoliszacharid adagolásával visszafejleszthető.—Griffith

1928-ban végzett kísérletében az apatogén toknélküli variánst a hővel elölt patogén variánssal együtt juttatta a kísérleti állatba. Az elpusztult állatból a patogén variáns virulens formáját izolálta, ami az apatogén törzs patogénné való transzformációját jelentette. Ezt a transzformációt 1944-ben Awery, McLeod és McCarty tisztított DNS-készítménnyel sikeresen megismételte (J. Exp. Med. 79:137. 1944). Az örökletesen apatogén variánsba juttatott patogén törzsből származó DNS-készítménnyel a patogén tulajdonságot elő tudták hozni. Ezzel a kísérlettel a DNS információhordozó szerepe egyértelmű bizonyítást nyert.

A felnőtt lakosság több mint 50 %-a hordoz a garatjában virulens *Pneumococcus* törzseket, mégis szervezetünk normál működése, valamint a baktérium antagonizmus megakadályozza a patogén törzs elszaporodását. A garat nyúlós nyáktartalma szinte odatapasztja az ott élő baktériumokat, a gégefedő reflexe megakadályozza az aspirálását, a léguti hám csillómozgása kiszállítja az esetleg bekerülő fertőző csírákat, a köhögési reflex segít ezt a tevékenységet és végül a falósejtek végeznek a betolakodóval. A tüdőgyulladás bekövetkezését a fenti rendszer zavara okozhatja. A felső légút vírusos megbetegedésével együttjáró bőséges nedvtermelés felhígítja a nyákot. Ödémás állapotban, ágyban fekvéskor, a gégefedőt működtető reflex zavara miatt a híg nyákkal a baktérium az epiglottis mögé kerülhet. Meghűlés, altatás, alkoholos intoxikáció is okozója lehet a kórforma kialakulásának. A tüdőbe került *Pneumococcus* a nyirok rendszeren keresztül a vérbe jut, ahonnan különböző szervekbe kerülve további súlyos gyulladásos folyamatokat indíthat el (endocarditis, pericarditis, meningitis, peritonitis, etc.). A tokképződéshez szükséges magasabb szén-dioxidkoncentráció a tüdőtől kezdve végig biztosítva van. A torokból természetesen közvetlen fertőzéssel a gyulladás megjelenhet a középfülben, a saruhártyán vagy az arc- és homloküregekben is.

A *Leuconostoc mesenteroides* a család apatogén tagja. Örökletesen triózfoszfát-izome-ráz és aldoláz hiányos faj. Lencsealakú sejtjeik párban vagy rövid láncban fordulnak elő. Tokot nem képez, viszont szacharózból 20-25 °C-on dextrán polimert hoz létre, ami a törzs ipari érdekességét okozza. Minimál táptalajon (ammónia + glükóz) is képes szaporodni, de a tápközegben levő aminosavak elősegítik a növekedését. Anaerob körülmények között glükózból a pentózfoszfát-út igénybevételel D-tejsavat, etanolt és széndioxidot termel. A baktériumsejtek 55°C-on elpusztulnak, de cukorgyárakban, dextránnal körülvéve fertőzőesként 85 °C-on is életben maradnak. — A *Leuconostoc mesenteroides*-ben anaerob körülmények között működő szénhidrátbontás közben az aldoláz enzim hiánya miatt tejsav mellett számottevő mennyiségben etanol és ecetsav is képződhet. Ez esetben a glükóz a pentózfoszfát-úton hasznosul, és különös jelentőséget nyer a xilulóz-5-foszfát foszforoklasztikus bomlása.

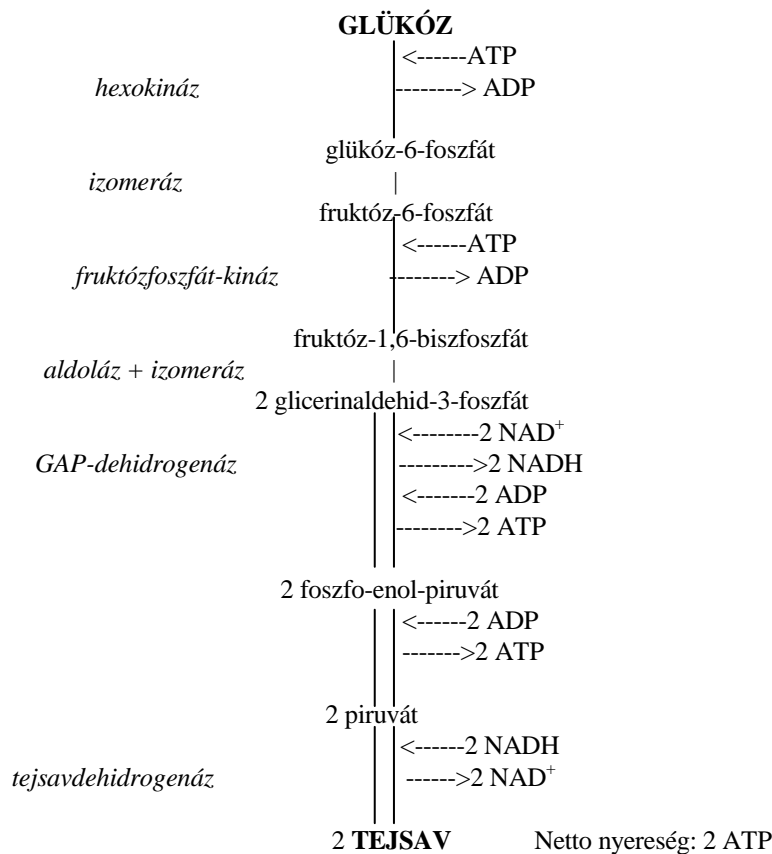




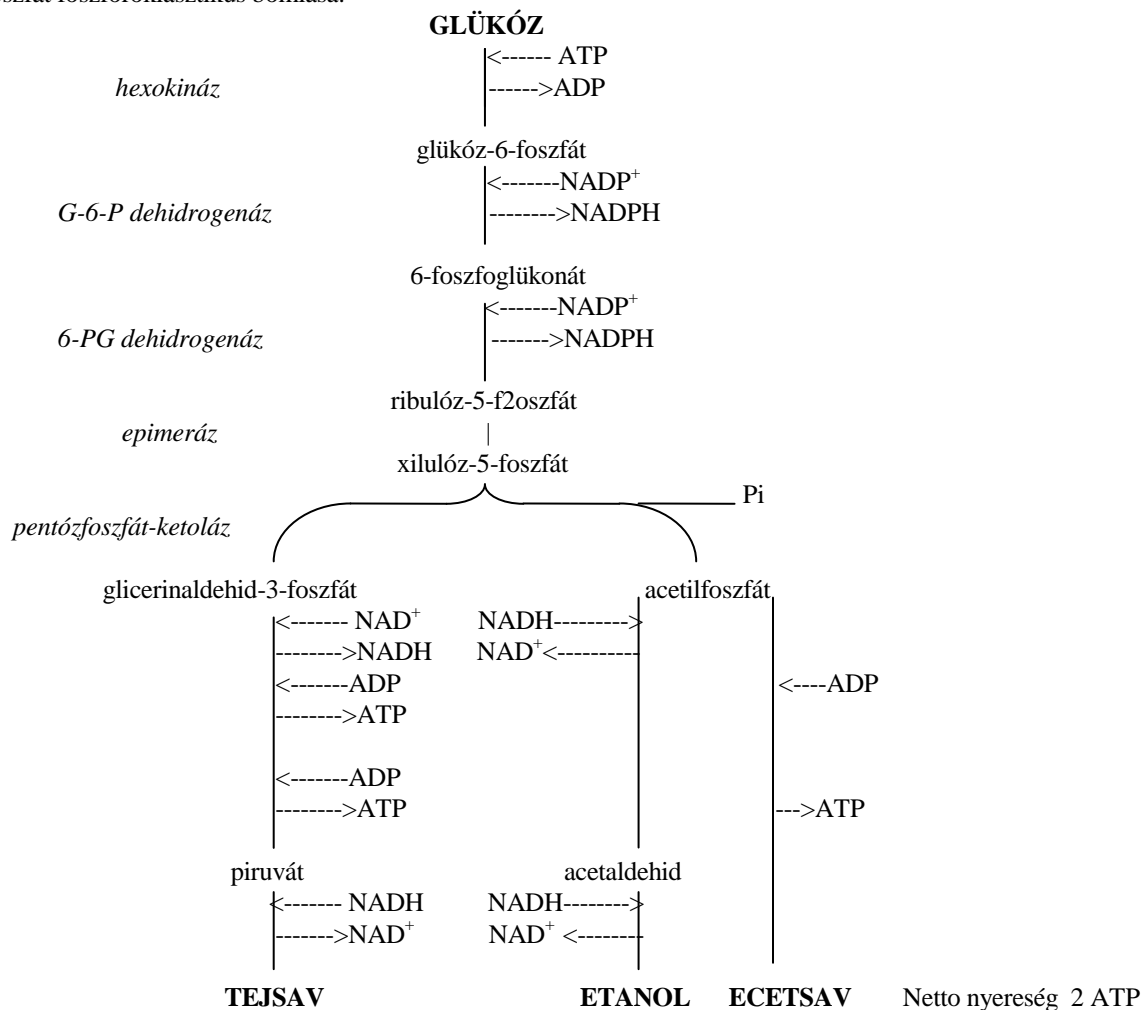
## LACTOBACILLACEAE

A tejsavbaktériumok egészségügyi és élelmiszeripari szempontból igen értékes mikroaerofil fakultatív anaerob szervezetek. Az emlős szervezet testüregeiben élve (szájüreg, bélcsatorna, hüvely) és a körülményekhez tökéletesen alkalmazkodva, pusztán jelenlétükkel és létszámukkal a gazdaszervezet számára előnyös élettani körülményeket alakítanak ki. Századunk elején a szakterület részletes vizsgálatát Orla-Jensen végezte. A közeg savanyúságát jól tűrve, gyakorlatilag kiszorítják, illetve elnyomják jelenlevő fertőző baktériumokat és gomba törzseket. Antibiotikus hatású peptidok termelésével is befolyásolják a környezetükben kialakuló flóra összetételét. Egyes fajaik poliszacharidot választanak ki. — A tejsavbaktériumok élőhelye tápanyagban gazdag, ezért nem meglepő, hogy az elmúlt évmilliárdok alatt az anyagcsererendszerük zavara miatt különböző anyagcseremetabolitokra hiánymutánsokká, függővé váltak. Az enzimhiányos génállomány természetesen egyértelműen meghatározza a számukra előnyös életteret. — Ugyancsak hiányos az aminosav-bioszintetizáló enzimrendszerük. Ezért ezeket a vegyületeket és néhány vitamint a környezetükből kénytelenek felvenni. A klasszikus biokémiai analitika területén ezek a törzsek aminosavak illetve vitaminok mennyiségének a mérésére használhatók. — A laktobacillusok nem képesek a hemin szintézisére. Az oxidációt különleges flavoproteinek végzik. Az oxigén számukra azért nem toxikus, mert egy speciális flavintartalmú peroxidázuk van, ami a képződő peroxidokat azonnal lebontja. A táptalajhoz adott hemin hatására viszont megjelenik bennük a kataláz, ami a hemszintézis utólagos elvesztését igazolja. Anyagcsererendszer szempontjából két csoportba sorolhatók az ide tartozó prokarioták.

HOMOFERMENTÁLÓ törzsekben a glükolitikus út ép, ezért glükózból az EMP-úton főtermékként (90 %) tejsavat fermentálnak és csak kis mennyiségben képződik ecetsav, etanol és szén-dioxid



HETEROFERMENTÁLÓ törzsekben az aldoláz enzim hiánya miatt tejsav mellett számottevő mennyiségben etanol és ecetsav is képződik. Ez esetben a glükóz a pentózfoszfát-úton hasznosul, és különös jelentőséget nyer a xilulóz-5-foszfát foszforoklasztikus bomlása.

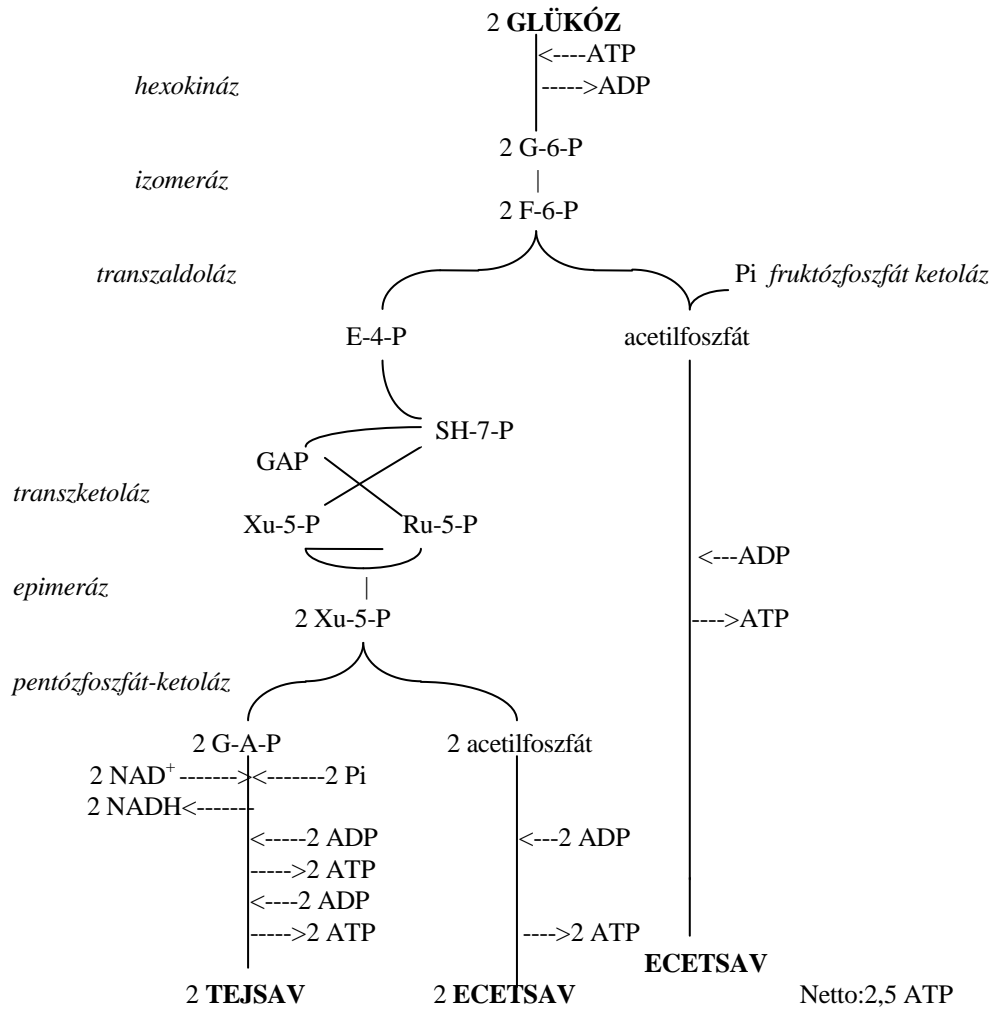


A fermentáléban a kialakuló etanol / ecetsav arányt a tenyészet fiziológiai igénye határozza meg.

### LAKTOBACILLUSOK AZ ÉLELMISZERGAZDASÁGBAN

A történelem előtti idők rítusaiban rögzülve széleskörű felhasználásra kerültek. Starterkultúrák formájában a húsiparban, a tejparban és a tartósítóiparban ma már tudományosan megalapozott formában nélkülözhetetlenek. A növényi tápanyagok tartósításában jelentős gazdasági szerepük van évezredek óta (savanyú káposzta, kovászos uborka). Az állattenyésztő gazdaságok a silótakarmányok előállításakor is a tejsavbaktériumok aktivitását hasznosítják. A **savanyítási eljárás** folyamán jól megfigyelhető az élettérért folyó küzdelem, és elkülöníthetők annak egyes állomásai. A nedves növényi darabokon először az aerob baktériumok szaporodnak. Elhasználják az oxigént, majd átadják helyüket a fakultatív anaerob *Aerogenes* és *Erwinia* fajoknak. Ezeket a homofermentáló *Streptococcus*-ok és a heterofermentáló *Leuconostoc* törzsek szorítják ki. A közben megjelenő 0,5-0,8 % tejsav már savtűrőképesség szerint szelektál; megjelennek a *Pediococcus* fajok. Végül a tenyészkörülmények változásával a savtűrő tejsavbaktériumok válnak uralkodóvá, főleg a *Lactobacillus plantarum*. — A **tejipari termékek** előállításakor is fontos szerepük van. Savtűrésüknek köszönhetően kiszorítják az életterükről a környezetü(n)kben előforduló, potenciálisan patogén *Streptococcus* fajokat. A G/C arányuk széles határok között változik, de az értékek bizonyos élettani tulajdonságaikkal összefüggést mutatnak. — Ipari tejsav gyártásához a *Lactobacillus delbrueckii*-t használják.

A *Bifidobacterium bifidum* a bélflóra tagjaként az erősebben anaerobok közé sorolható. Heterofermentálóként glükózból tejsavat és ecetsavat termel. Anyagcsererendszere azonban az előbbiekenél hiányosabb. Nemcsak az aldoláz hiányával kell megbirkózniuk, de a glükóz-6-foszfát dehidrogenáz sem működőképes. Az energianyero folyamatok így fruktóz-6-foszfátból indulnak. Nem meglepő, hogy ezekben a mikrobákban a fruktózfoszfát-ketoláz és a pentózfoszfát-ketoláz különösen nagy aktivitást mutat.



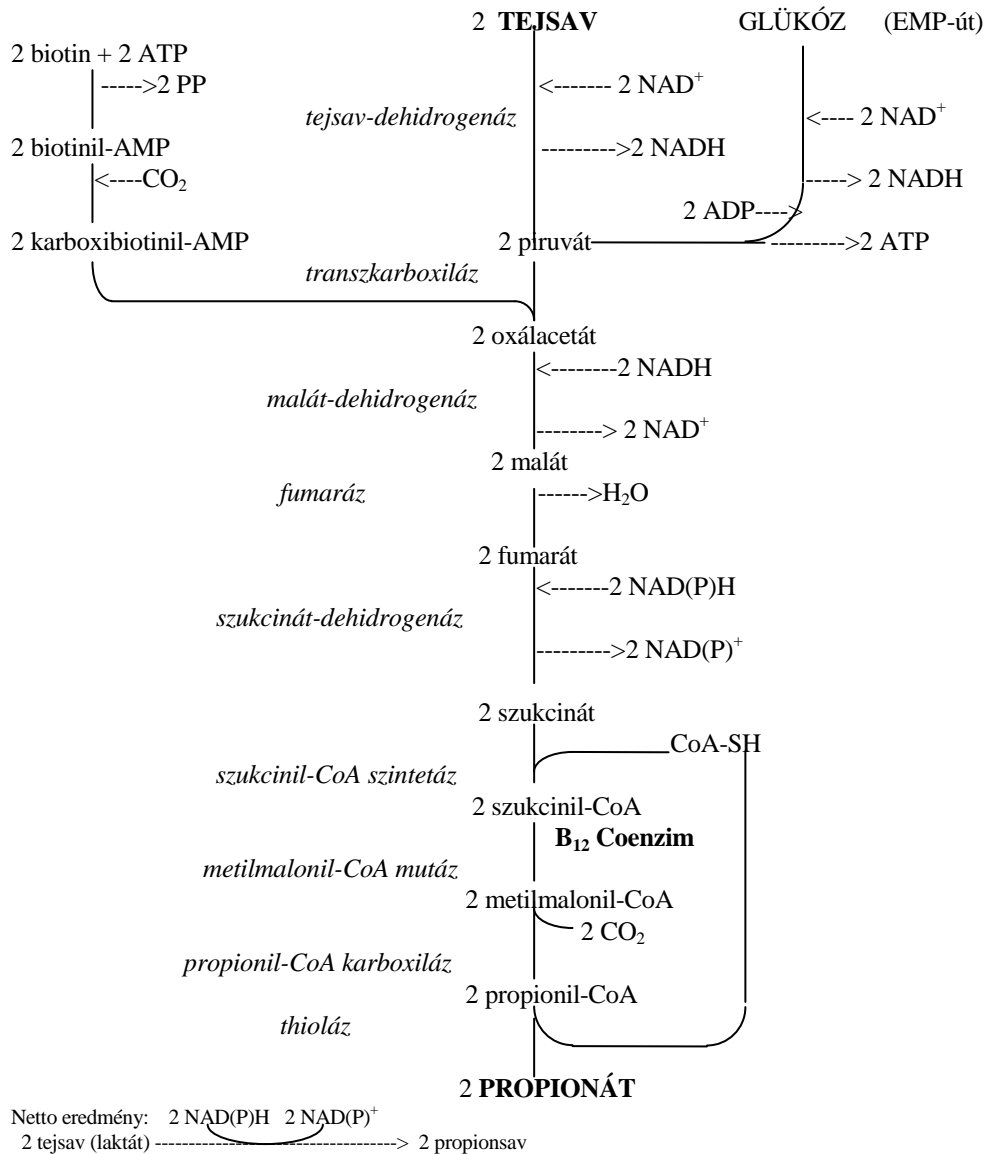
### A TEJSAVBAKTÉRIUMOK BIOKÉMIAI AKTIVITÁSÁT ÖSSZEFOGLALÓ TÁBLÁZAT

Triviális név	Tejsavbaktériumok	G/C	a fermentáció terméke	optimális 15°C ill. 45°C főfok
<i>Thermobacterium</i>	<i>L. jugurti</i>	39	homo dl	+
	<i>L. acidophilus</i>	36	homo dl	+
	<i>L. salivarius</i>	35	homo L	+
<i>Streptobacterium</i>	<i>L. casei</i>	46	homo L	+
	<i>L. plantarum</i>	45	homo dl	+
<i>Betabacterium</i>	<i>L. büchneri</i>	45	hetero dl	+
	<i>L. brevis</i>	43	homo dl	+
<i>Thermobacterium</i>	<i>L. bulgaricus</i>	50	homo D	+
	<i>L. leichmannii</i>	51	homo D	+
<i>Betabacterium</i>	<i>L. fermenti</i>	53	hetero dl	+
	<i>L. cellobiosus</i>	53	hetero dl	+

## PROPIONIBACTERIUM NEMZETSÉG

A taxonómiai helyzetük bizonytalan. Főleg a bélfőrából és a bendőből izolálható fakultatív anaerobok, de édesvízben, illetve tengeri iszapban is előfordulnak. A szénhidrátokat is jól hasznosítják. Energianyerő folyamataik zavartalan működéséhez biotinra és cobalaminra (B<sub>12</sub> vitamin) van szükségük. Vegyipari eljárásban a cianokobalamin fermentációs előállítására használhatók. Tejsavat és élesztőkivonatot tartalmazó táptalajon anaerob körülmények között is jól növekednek.

*P8ropionibacterium acidi-propionici* (ATCC 4875) anaerob anyagcseréjének vázlata



A propionsav baktérium aerob körülmények között a propionsavat képes szén és energiaforrásként hasznosítani. Oxigén jelenlétében a propionsav az ábrán feltüntetett úton visszakerül a citromsav ciklusba ahol elégsé az oxidatív foszforilációt táplálva biztosítja az életműködéshez nélkülözhetetlen ATP szintet.

## ENDOSPÓRÁS PÁLCÁK és KOKKUSZOK

Különböző élőhelyekről származó, Gram-pozitívan festődő, endospórákat képző, aerob, valamint fermentációs úton energiát nyerő, fakultatív anaerob és szigorúan (obligát) anaerob *Bacillus* fajok tartoznak a csoportba. Spórás formában a talajban több száz fajuk található. A mikroszkópi natív készítményben a spórák erős fénytöréssel tűnnek fel. Festett készítményben viszont éppen festhetetlenségükkel hívják fel a szemlélő figyelmét. — A spórák elhelyezkedése szerint megkülönböztethetünk centrális és excentrikus spórás bacillusokat. Az endospórák mérete sok esetben meghaladja a bacillus átmérőjét. A plektridium alaknál a pálcika középső része vastagabb a spóra mérete miatt. A Clostridiumok dobverőre emlékeztető alakot mutatnak. — Az endospóra nem tekinthető szaporító szervnek, mivel egyetlen vegetatív sejtből egyetlen, a faj túlélését szolgáló endospóra képződik. Ez a képlet kedvező körülmények közé kerülve csírázik, majd vegetatív sejtként folytatja szaporodását. A spóra és a vegetatív sejt közötti különbség nem csak a fizikai, kémiai károsító hatásokkal szembeni ellenállóképességben nyilvánul meg, de a kémiai összetételben is jelentős eltérés észlelhető. (Ann. Rev. Biochem. 37:51 1968).

<i>Bacillus megaterium</i> kémiai összetétele	10 <sup>15</sup> vegetatív sejt	10 <sup>15</sup> spóra
összfehérje	910 g	330 g
oldható fehérje	680 g	165 g
DNS	91 mol P	40 mol P
riboszomális RNS	380 mol P	140 mol P
tRNS	95 mol P	35 mol P
savoldható foszfor	500 mol P	52 mol P

[A fehérjét gramban, a foszfortartalmú vegyületek mennyiségét P(foszfor) molban mutatja a táblázat. A spóra DNS-tartalma  $3 \times 10^9$  dalton. A vegetatív sejtben mért magasabb érték abból adódik, hogy az élő sejtszám meghatározásakor a növekedő, de még szét nem hasadt sejtpárokat egy baktériumnak számolják.]

A spórában a fehérjeszintetizáló rendszer működőképes. Az energianyerő folyamatok, és a membránhoz kötött citokróm-rendszer leépül, csak az oldható flavoprotein rendszer marad működőképes. Nem ATP az energiatároló, hanem a glicerinsav-3-foszfát, amely energiabefektetés nélkül alakulhat foszfoenolpiruváttá. Csírázásakor az első fehérjék képződéséhez szükséges építőelemeket a fehérjeburok lebontása, az energiát pedig a glikolízis szolgáltatja.

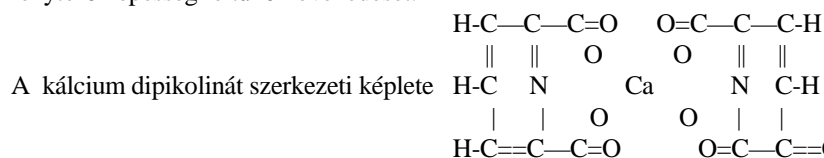
—A spóra elektronmikroszkópos képén középre tömörülve helyezkedik el a DNS. Az ezt burkoló vékony membránon kívül jól látható a peptidoglikán spórafal. Kémiai összetételében a vegetatív alak sejtfalával egyezik. Az azzal készült, színezett antitesttel jól festhető.

—A következő elkülöníthető réteg a kéreg (kortex), ugyancsak peptidoglikán, de a sejtfalnál lényegesen sűrűbb állományú. A kéregképződés zavara a vízmentesítést is nehezíti. Az előbb említett antitesttel nem festhető. A kéreg muraminsav állományának mindössze 6 %-a van keresztkötésben, de nem tetrapeptid hanem L-alanin kapcsolja a szomszéd lánchoz. A muraminsav nagyobb hányada muramil-laktámként (tejsavamid kötés!) található a kéregben. Különösen érzékeny a kéreg szerkezete a lizozim jelenlétére, mert feltűnően gyorsan bontja a kéregben előforduló muraminsav-származékokat.

—A harmadik réteget egy keratinhoz hasonló fehérje alkotja. A spóra fehérjetartalmának 80 %-a itt található. Ez a vastag réteg biztosítja a kémiai ellenállóképességet, a feltűnő UV- és röntgenrezisztenciát. A nagyszámú diszulfidkötés redukálása nélkül nem érdemes kísérletezni a fal feloldásával. A csírázó spóra elsőként felépülő fehérjéi a kéregből felszabaduló aminosavakból képződnek.

—A külső fehérje burkot 20 % szénhidrátot tartalmazó lipid (lipoprotein), az exosporium veszi körül. A túlélés szempontjából nem esszenciális, de jelenléte előnyös az előbbi fehérje burok képződése szempontjából.

A **spórák feltűnő hőtürése** nem magyarázható enzimeik hőstabilitásának fokozódásával. Sokkal fontosabb ebből a szempontból a spórák csekély víztartalma és nagy kalcium-pikolinát tartalma (J. Gen. Microbiol. 16:418. 1957). A spóra tömegének 15 %-a dipikolinát. Ez a lizin prekursor, mint kelátképző kalciumot képes megkötni. Ez okozza a fénytörő képesség feltűnő növekedését.

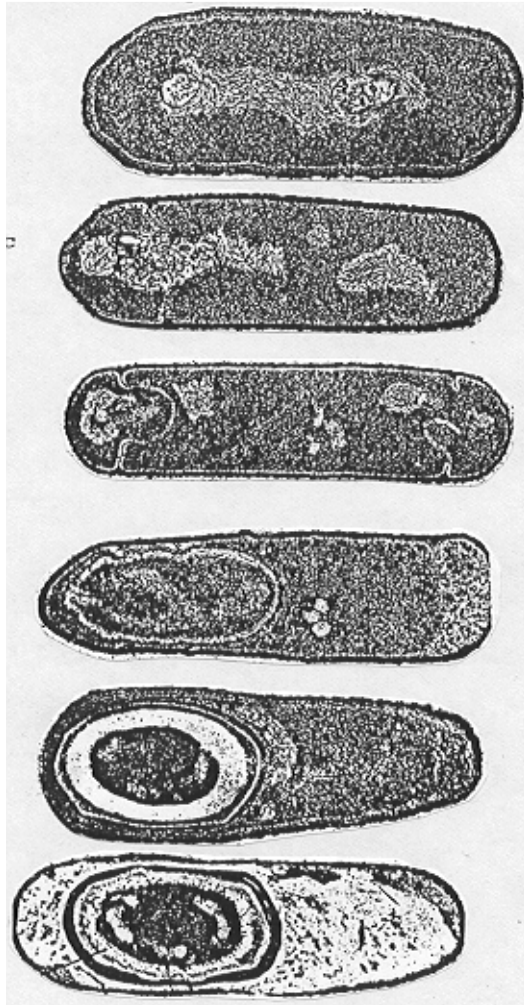


Kalciumhiányos körülmények között képződő spórák hőérzékenyek maradnak, de csökken a hőrezisztencia, ha genetikai hiba miatt nem képződik elegendő dipikolinsav. A spóra víztartalma a száraz gyapjú víztartalmával egyezően mindössze 15 %. Church kimutatta, hogy a spóra dipikolináttartalmával nő a hőrezisztenciája (Nature 183:124. 1959).

A sporulációt kiváltó szabályozó mechanizmus működését nem ismerjük pontosan. Kiváltó okként szerepel az anyagcsere zavar, a tápanyaghiány, az intracelluláris GTP-koncentráció csökkenése, szigorúan anaerob szervezetek esetében a légköri oxigén jelenléte. — A spóráképződés 9-10 óra alatt lejátszódó endotróf folyamat, anyag- és energiaigényét az anyasejt biztosítja. A spóráképződés desztillált vízben is zavartalanul végbemegy. — A genetikai állományban jelenlevő, spórázást irányító gének a vegetatív fázisban inaktív állapotban várják az endospóráképzés kezdetét. Nem ismeretes, mi az a szignál, amely aktiválja ezeket a géneket. Kétségtelen, hogy a spóráképződés első

jelenségei között szerepel az RNS-polimeráz szerkezetének a megváltozása egy proteáz hatására. Nem tudjuk, hogy az átalakítást végző proteáz milyen jelzésre képződik. — A vegetatív sejtben működő RNS-polimeráz  $\sigma$  faktora 43 kDa méretű. A spórázó *Bacillus subtilis* sejtben az idő előrehaladtával, ennél kisebb tömegű  $\sigma$  faktorok (7 féle 32-17 kDa méretig) jelenlétét igazolták.

#### *Bacillus subtilis* endospóra képzése



korai fázis (60 perc)  
megkettőződő DNS  
új  $\sigma$ B-faktor 30 kDa  
10 új fehérje képződése

középső szakasz (120 perc)  
a maganyag szétválása  
újabb  $\sigma$ E-faktor 24 kDa  
6 új fehérje képződése

prespóra megjelenése (180 perc)  
újabb faktorok:  $\sigma$ G 17 kDa és  
 $\sigma$ K 27 kDa és  
6 újabb fehérje képződése

késői fázis (240 perc)  
14 fehérje képződés

spóra érés (300 perc)

érett spóra (600 perc)

Az endospóráképzés első órájában 10 különleges, addig nem ismert fehérje képződik. A második órában 6 új fehérje képződését igazolták. A harmadik órában újabb 6 fehérje jelenik meg. A továbbiakban még 14 fehérje képződését bizonyították. A sporulációt befolyásoló feltérképezett mutációk száma meghaladja az ötvenet. Ez nem jelent ötven különböző enzimet, mert több esetben azonos gén különböző helyen sérült variánsaival találkozunk. Eddig mintegy húsz gén ismert, de számuk meghaladhatja a százat is.

A sporuláció egyes szakaszait érintő mutációk a vegetatív növekedést nem befolyásolják és egymástól függetlenül jelennek meg. A sporulációban sérült mutánsok a vegetatív szakaszban nem különböztethetők meg vad társaiktól.

A spórázási folyamat első, mikroszkóppal jól látható jele a baktériumsejt egyik vége közelében megjelenő, membránból betüremelő válaszfalkezdemény. Ezt megelőzi a DNS megkettőződése. A maganyag egy része ezután a sejt egyik végébe, a válaszfal kezdeményhez vándorol. A válaszfalkezdemény a leendő spóra DNS-tartalmát körülfogva zsákot képez, majd teljesen lefűződve alakítja ki a prespórát.

Folyamatosan egyidejűleg alakulnak ki a spórafal jól megkülönböztethető rétegei (peptidoglikán, cortex, keratin). A folyamat indulásától számított ötödik órában kialakuló spóráköpeny erős fénytörése miatt fáziskontraszt mikroszkóppal jól szemlélhető testecskeként vizsgálható. Az ezt követő érési folyamatban a készülő spóra hőtűrése ugrásszerűen megnő. A hőrezisztencia kialakulása a hetedik órára fejeződik be. Ezt követi az anyasejt lízise, illetve a lipoprotein tartalmú exosporium kialakulása. Sok esetben az anyasejt maradéka tartósan megtalálható a spóra körül, más esetben az anyasejt szétesésével a spóra kiszabadul.

## VEGETATÍV ALAK KIALAKULÁSA ENDOSPÓRÁBÓL

A spóra csírázása az előbbi folyamattal ellentétes program lefutásával újra vegetatív formába juttatja vissza a mikroszerkezetet. Fáziskontraszt mikroszkópi képen a fénytörőképesség fokozatos csökkenése, a spórák sötétedése, duzzadása észlelhető. A program egyes lépéseiről keveset tudunk. Mindenek előtt elkészül a vegetatív életre szolgáló RNS-polimeráz amely a vegetatív sejt felépítéséhez szükséges enzimek információit képes átírni. A viszonylag rövid (60 perc) csírázási folyamat három szakasza különböztethető meg.

—**Aktíválás.** Az indító jel itt sem ismert. Általában a kedvező életkörülmények indítják a folyamatot (tápanyagban dús, nedves, meleg környezet). A *Bacillus subtilis* csírázását siettetni lehet L-alanin adagolásával. Néha a külső kemény fehérjeburok mechanikus roncsolása (üveggörrel való dörzsölése), illetve néhány perces hőkezelés (60-80 °C) is gyorsíthatja a folyamatot. Egyes esetekben előnyös hatásúnak találták a mangán-ion jelenlétét. Az anaerob bacillusok spóráinak csírázása csak oxigénmentes körülmények között indul meg.

—**Csírázás.** A peptidoglükánkéreg hidrolízise meglepően gyorsan megy végbe. Jól észlelhető a dipikolinát-tartalom rohamos csökkenése. Ezzel egyidejűleg megszűnik az erős fénytörés és a csírázó sejt jelentősen megduzzad.

—**Kinövés.** A DNS-tartalom megkettőződésével a sejt átnövi a spóraburok maradékát és osztódni kezd. Kezdetben az építőelemek a lebomló fehérjeburokból származnak. A csírázási folyamatban először a fehérjeszintézis, majd az RNS-szintézis indul.

*Bacillus anthracis*, Tudománytörténeti szempontból a csoport legismertebb tagja a lépfene kórokozója. Ez volt az első eset, amikor a baktérium jelenléte és a megbetegedés közötti összefüggést sikerült tudományosan igazolni; R. Koch 1877-ben tiszta tenyészetben előállította a feltételezett kórokozót, majd egészséges állatba oltva, kísérletesen bizonyította a törzs patogenitását. — Négy évvel később Pasteur Pouilly-le-Fort-ban nyilvános kísérletben bizonyította az immunizálás drámai hatását. Huszonnégy bárányt, egy kecskét és hat ökröt oltott 42-43 °C-on való tenyésztéssel legyengített anthrax bacillussal. Két héttel később virulens tenyésztéssel oltotta őket, előzetesen nem kezelt állatokat használva kontrollként. Két nap múlva a nem vakcinált állatok kivétel elpusztultak, a vakcináltak viszont életben maradtak. A vakcináció fogalma (tehén = vacca) Edward Jenner óta, - aki a tehénhimlő okozta varróból származó nedv felületi alkalmazásával az emberi himlő elleni sikeres védelem lehetőségét igazolta - már ismert volt. Pasteur kísérleteivel ennek a módszernek a tudományos magyarázatát adta.

A kórokozó *B. anthracis* nagyméretű (1-1,5 x 4-8 µm) pálcá. Magasabb széndioxid- tartalmú légkörben D-glutaminsav polimert tartalmazó tokot fejleszt. Ilyenkor a telep nyálkás bevonatú. Jó növekedés esetén az osztódó sejtek nem válnak szét, hosszú láncokat alkotva kötegekbe rendeződve helyezkednek el természetes élőhelyükön. Fiziológiai körülmények között, az élő állatban nem, csak savanyú milióban spórázik. Laboratóriumi körülmények között a spórázás 48 óras korban, a logaritmikus növekedési fázis végén kezdődik. A spóra a sejt középső részén helyezkedik el. Fizikai és kémiai hatásnak jól ellenáll; tíz perc forralás, 0,1 % szublimát nem károsítja. Száraz talajban évekig megtartja életképességét, fertőző tulajdonságát. Csak három óráig tartó 140 °C-on végzett szárazhőkezelés pusztítja el. A Közel-Keletről származó kecskeszőr már több esetben okozott fertőzést. A légzőszerveken keresztül a szervezetbe kerülő spórából kicsírázó *Bacillus* a nyirok rendszeren keresztül a véráramba kerülve elszaporodik és megkezd a toxin termelését, amely valójában három fehérje (ödéma faktor, protektív antigén, letális faktor) keveréke. A vaccináshoz felhasznált készítmény mindhárom faktor felhasználásával készül.

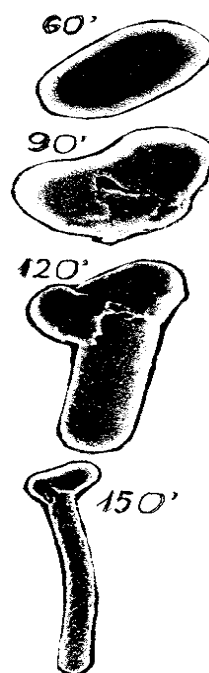
*Bacillus subtilis*. Kutató laboratóriumok kedvelt kísérleti alanya, apatogén apró sejt pálcika. A sejtek osztódáskor nem mindig válnak szét, ezért gazdag táptalajon tenyésztve hosszabb-rövidebb fonalakat alkot. Asporogén mutánsaikat ipari eljárásokban amiláz és proteáz termelésre használják. A baktériumfiziológia kedvelt kísérleti szervezete, mivel könnyen tenyészthető, DNS-készítményekkel jól transzformálható, lizozimmal protoplasztálható és a protoplasztok polietilén-glikol segítségével fuzionáltathatók. Az első protoplasztfúziót Alföldi és munkatársai végezték a Szegedi Biológiai Központban.

*Bacillus cereus var. mycoides*. Nagysejt, jól spórázó bacillus, amely ugyancsak fonalas kötegeket alkot. Szilárd táptalajon gombákra emlékeztető telepet alkot. Extracelluláris penicillináz termelésre használható. Az eredetileg membránhoz kötődő penicillináz proteolízissel válik el a membrántól, mégpedig az enzim és a membránhoz rögzítő lipofil rész közötti kötés felszakadásával.

*Bacillus licheniformis* nevét az agar táptalajon növekedő telep zuzmóra emlékeztető külleméről nyerte.

*Bacillus megaterium* Nitrátot és glükózt tartalmazó táptalajon jól fejlődő különösen nagyméretű talajlakó.

*Bacillus thuringiensis*. Sejtjében a spóráképzéssel egyidőben egy fehérje természetű toxin képződik, amely mikroszkóppal jól észlelhető, nagyméretű kristályt alkot. Ez a kristály a hernyók belébe kerülve, elpusztítja azokat. A mutagén kezeléssel előállított, toxint nem termelő mutánsok gyakorlatilag megkülönböztethetetlenül hasonlókká válnak a *B. cereus* törzshöz. A fehérjekristály génjének beépítése a dohánynövény kromoszómájába az *Agrobacterium tumefaciens* Ti plazmidja segítségével a levelet rágó hernyó pusztulását okozza



## OBLIGÁT ANAEROB BACILLUSOK

A *Clostridium* fajok számára a légköri oxigén toxikus. Hisztotoxikus tulajdonságúak, magasabbrendűekben gázgangrénát okoznak. Elsősorban a bélcsatornában, trágyában élnek. Spóráik a talajban is előfordulnak. A spóra ugyanis elviseli az oxigén jelenlétét, csírázni azonban csak anaerob körülmények között képes. A *Clostridium* fajokban nem működik a citokróm-rendszer elektrontranszportlánc, továbbá a kataláz, és a peroxidáz. Az oxigén számukra toxikus, mivel a flavinenzim-rendszerük oxigén jelenlétében működve peroxidot képez, amit nem képesek elbontani. Az antibiotikum korszak előtt a gangrénás folyamatok sebészi megoldása után az oxigéntúlnyomás számukra toxikus hatását előnyösen használták. Gyakran találkozhatunk *Clostridium* fajokkal látszólag aerob körülmények között is, mégpedig *Proteus* fajokkal kevert tenyészetben. Ez utóbbi aerob baktérium olyan intenzíven fogyasztja az oxigént, hogy a környezetében gyakorlatilag oxigén mentes körülményeket teremt.

A *Clostridium perfringens* rövid, vaskos, csilló nélküli, tokos pálcika. Egyedül vagy kettesével fordul elő. Cukrokból jellegzetes bűzös gázt termel. Penicillinre érzékeny. Patogenitását a toxinok okozzák és a környezetébe kiválasztott enzimek fokozzák. A nekrotizáló és hemolizáló toxinokon kívül foszfátidázt, proteinázt, kollagenázt, hialuronidázt, dezoxiribonukleázt és egy adenilcikláz aktivitást fokozó enterotoxint is termel. Ez utóbbi az ileumban és a jejunumban hasmenéssel járó bélgyulladást okoz.

A *Clostridium septicum* karcsú, csillós bacillus. Jellegzetes, vajsav szagú gáztermeléséről lehet felismerni.

A *Clostridium botulinum* 4-8 csillóval mozgó, karcsú, spórák pálcika. A név a fő veszélyforrásra, a klbászra (botulus) utal. Talajban, tófenéken, állatok belében fordul elő. Spórái feltűnően ellenállóak. Szénhidrátból avas szagú gázt fermentál. Az előforduló hat típus közül csak három (A, B, E típus) okoz tragikus kimenetelű megbetegedést. A bacillus általában nem szaporodik az emberi szervezetben, mert a felnőtt szervezetbe kerülő 1 µg toxin már halálos adag, amely általában 18-30 óra között kezd hatni és légzés bénulást okoz. Csak a trivalens antitoxin intravénás adásától lehet segítséget remélni. A bekötődött toxin ugyanis már nem távolítható el a szinapszisokból. A fő veszélyforrás a nyers kolbász, amelyben a bacillus elszaporodva felhalmozza a halálos toxint. Egyébként 10 perc főzéssel a toxin inaktíválható.

A *Clostridium tetani* apró (0,4 x 2,5 µm) peritrich csillós pálcika. Obligát anaerob bacillusként főleg a lovak bélcsatornájában él. Onnan kikerülve endospórák képez, és így várja a talajban a csírázás lehetőségét. Erre alkalmas például egy melegvérű lény mélyebb testszöve, ahova nyílt seben keresztül juthat be. A felületi sérülés látszólagos gyógyulása után, a mélyebb rétegben meghúzódó spóra kicsírázik és a vegetatív sejt hemolizint, fibrinolizint és egy hőlabilis kolineszteráz gátlót termelve szaporodni kezd. Ez utóbbi fehérje hatására felszaporodó acetilkolin halálos következményekkel jár (meregörccs okozta légzésbénulás). Ezt megelőzendő; mélyebbre terjedő sérülés esetén antitestet tartalmazó szérummal oltják a sebesültet. Fertőzés esetén a góc sebészi eltávolítása, oxigén túlnyomás és penicillin kezelés lehet hatásos. A tetanusz toxoiddal aktív immunizálás végezhető, ami tizenöt évig hatásos védelmet jelent a fertőzés ellen.

### CLOSTRIDIUMOK IPARI HASZNOSÍTHATÓSÁGA

A triviálisan vajsavas baktériumnak nevezett *Clostridium* fajok már Pasteur figyelmét is felkeltették, de a szénhidrátból képződő redukált termékek iránt a fejlődő vegyipar is érdeklődést mutatott. A századforduló körül a háborúra készülő nagyhatalmak szerves vegyipari alapanyagigénye (robbanószergyártás) gyorsította a nagyipari technológia kifejlesztését. Ezek a baktériumok glükózból fruktóz-biszzfáton keresztül különböző savakat, alkoholokat, szén-dioxidot és hidrogént termelnek. Fehérje erjesztésekor anaerob körülmények között végbemenő aminosav dehidrogénezési, oxidatív dekarboxilezési és az aminosavak redukatív deaminálási folyamatait összekapcsolva (Stickland-reakció 1934) a megfelelő savakon kívül ammónia is képződik.

A *Clostridium acetobutylicum* (ATCC 824) talajban élő, peritrich ostoros (0,8 x 4 µm) pálcika, amely a légköri nitrogén megkötésére is képes. Ipari eljárásban acetone és butanol előállítására használják. A butanol, mint membránkárosító oldószer limitálja az elérhető koncentrációt; 2 % felett már toxikus tünetek jelentkeznek. A ermentációs eljárás közben először a megfelelő sav képződik, ami a fermentáció második szakaszában, a sejtek növekedése nélkül redukálódik alkohollá. A reakcióelegyhez adott kalcium-karbonát hatására ez az átalakulás nem következik be, felszaporodik a vajsav és az ecetsav kalciumsója.

Kétnapos fermentáció termékösszetétele (mg / liter koncentráció):

	Kalciumkarbonát nélkül	Kalciumkarbonát jelenlétében
Vajsav	32,2	630,0
butanol	411,5	45,7
ecetsav	102,1	230,7
etanol	44,5	22,4
acetone	222,3	13,2

Az ipari gyakorlatba vett törzsből céltudatos szelekcióval nyert *Clostridium butylicum* butanol és izopropanol előállítására használható. Az elkülönített *Clostridium butyricum* stabil variáns vajsav- és ecetsavképzésre alkalmas.



## Az ACTINOMYCETES csoport

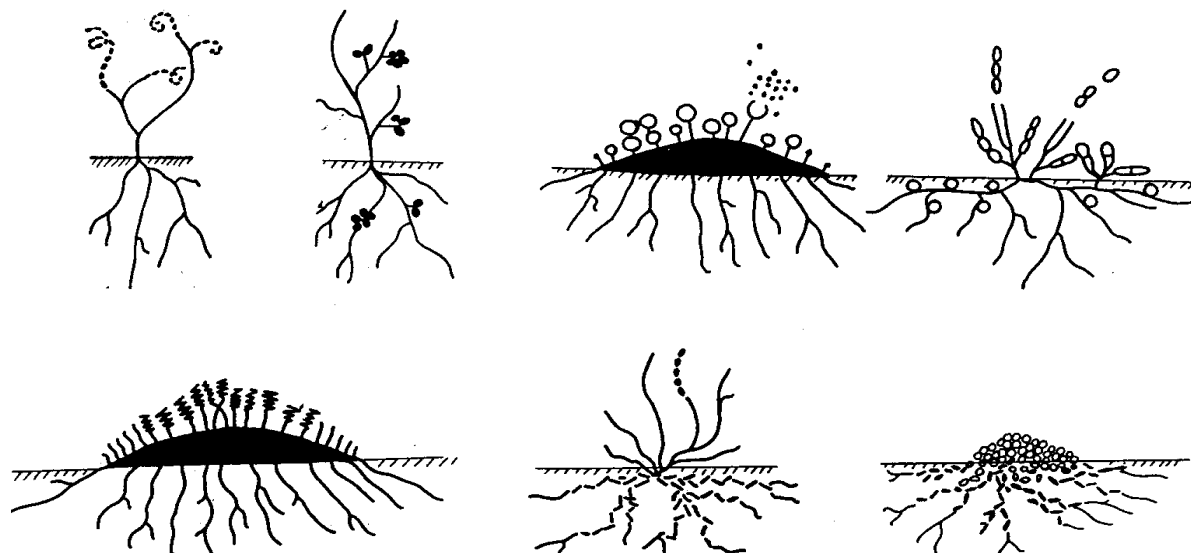
Több mint száz éve ismerik sugárgomba néven ezeket a baktérium- és gombatulajdonságokat magukban egyesítő mikroszkopikus talajlakókat. A csoport neve az ακτινος sugár és μυκοσ gomba szavak összetétele. A nyári zivatarok után érezhető jellegzetes talajillat tőlük ered. gyszéges jellemzésük sokalakúságuk miatt nem könnyű feladat.

Az Actinomycetales rend Gram-pozitívan festődő, morfológiai alapon megkülönböztethető családjai a *Micrococcus* nemzetségtől az elágazó fonalas szerkezetű, differenciált telepet képező *Streptoverticillium* fajokig változatos képet mutatnak. DNS-tartalmukban a G+C mennyisége 55 % felett van. Sejtfallszerkezetük azonossága mellett lipidtartalmuk is hasonló. Filogenetikai kapcsolatukat a nukleinsav-hibridizációs kísérletek és a 16S rRNS azonosságuk igazolja. Spóráképzésük a szaporodást szolgálja. Hőtűrő tartós spórákat csak a *Thermoactinomyces* nemzetség tagjai fejlesztenek. Nagy morfológiai változatosságuk, színes telepeik, valamint a környezetbe kiválasztott színanyagaik változatossága miatt a törzsek elkülönítésére csak azonos körülmények között végzett, párhuzamos kísérletek eredményeit értékelve vállalkozhatunk. Az irodalmi adatok összehasonlítása sok esetben félrevezető. Részletes megismerésüket indokolja változatos morfológiájuk, differenciálódási jelenségeik, a környezetre gyakorolt hatásuk, az ipari alkalmazhatóságuk és ezzel összefüggő bonyolult szabályozott anyagcsere hálózatuk. A DNS replikációt ritkán követi válaszfal képződés. Ebből következően látszólag "többmagvú" prokariota jellegük, a fonalak elágazása azonban mindig szeptum közelében indul növekedésnek. Az elágazó fonal csúcsi részében intenzív az anyagcsere. Ez a növekedő szakasz mögötti szubapikális szakaszban folyó replikációt nem követi a válaszfal képződés. Lineáris szerkezetű kromoszómájuk feltűnően nagy 8Mb  $8 \times 10^5$  bázispár méretű.

### Elkülönítésük céljából elvégzendő morfológiai vizsgálatok:

- 1.) Adott hőmérsékleten és táptalajon fejlődő telepeik változásának megfigyelése és összehasonlítása rendszertani besorolásuk szempontjából fontos
- 2.) A pigmentképzésük vizsgálata a tápközeg, az életkor és a pH függvényében.
- 3.) A légmicélium-képzés vizsgálata.
- 4.) A konídiumképzés vizsgálata a légmicéliumon és a szubsztrátmicéliumon.
- 5.) A spórahordozó hifa alakú jellegzetességeinek vizsgálata.
- 6.) A spórák száma, elhelyezkedése, mozgó vagy nem mozgó voltak.
- 7.) A sporangium alakja (ha van).
- 8.) A spórák küllemének változása, elektronmikroszkópos összehasonlítása.
- 9.) A fonalas alak fragmentálódási tendenciája.

Taxonómiai szempontból kiemelendő a kémiai és élettani vizsgálatok jelentősége, ezen belül a sejtfallösszetétel vizsgálata, a lipid tartalom vizsgálata, az optimális tenyésztési hőmérséklet meghatározása, a levegőigény mérése és a szénhidrát-hasznosítás vizsgálata (D-glükóz, L-arabinóz, D-xilóz, D-mannit, D-fruktóz, szacharóz, inozit, glicerín, keményítő) — A vázlatos rajz a fonalas szerkezetű prokariota típusok fejlődési ciklusait, a légmicélium elkülönülését a szubsztrátmicéliumtól, továbbá a spóráképzést mutatja.

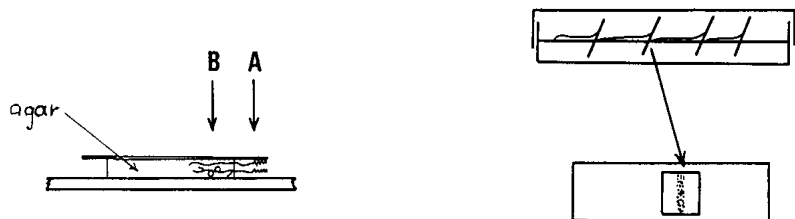


Morfológiai vizsgálatuk — az idesorolt fajok fizikai-kémiai és fiziológiai körülmények által befolyásoltan változó tulajdonságai miatt — különleges gondossággal végzendő. Az agar-táptalajon növekedő kolónia fonalas szerkezetű képletekkel a tápközeg mélyebb rétegébe hatolva veszi fel a növekedéséhez szükséges tápanyagot. A táptalaj felszínén viszont kompakt telepet képez, amelyről némi autolízis mellett legtöbb esetben finom fonalakkal álló légmicélium-tömeg emelkedik fel. A fonalak vékonysága miatt felületi mikroszkóppal általában nem vizsgálható a jelenség. Áteső fényben való vizsgálat céljából viszont különleges technikát kell alkalmazni.

A fonalas prokarioták különlegessége az elterjedést szolgáló spórák képzése. Spóra képződése sok esetben nem csak a légmicéliumon figyelhető meg, de a differenciálódási folyamat a tápközegbe hatoló fonalakon is elősegíti a spóráképződést. Gyakorta a fonalak feltöredezése is a szaporítást szolgáló, artrospóraszerű képletek megjelenésével jár. — Az eredményre vezető egyik vizsgálati módszer szerint különleges mikroszkópi készítményt oltanak és a növekedő tenyészetet folyamatosan vizsgálják B—A pontok között. A tárgylemezre oltott spórák növekedését figyelve a teljes fejlődési ciklus végig követhető. A páratelt légkörben aseptikus körülmények között fejlődő készítmény egy-két héten keresztül vizsgálható. — A másik módszer szerint Petri-csészébe kiöntött agar táptalajra oltott tenyészetre sterilizált fedőlemezeket helyeznek fordított helyzetben. A növekedő tenyészet fonalai felkúszva a fedőlemezre mikroszkópos vizsgálatokra alkalmas réteget képeznek. Különböző időpontban a fedőlemezeket nedves tárgylemezre helyezve a mikroorganizmus fejlődése jól megfigyelhető.

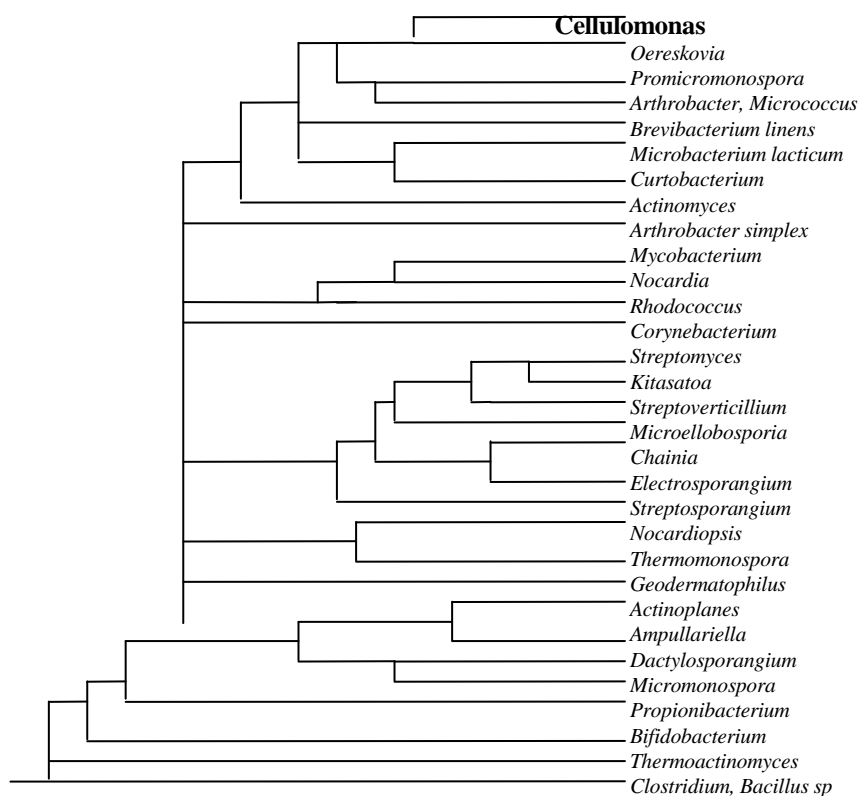
A tárgylemezre cseppentett, fedőlemezrel fedett tápagaron fejlődő fonalas szervezet vizsgálata.

A tápagarról a fedőlemezre felkúszó fonalak fejlődésének vizsgálata

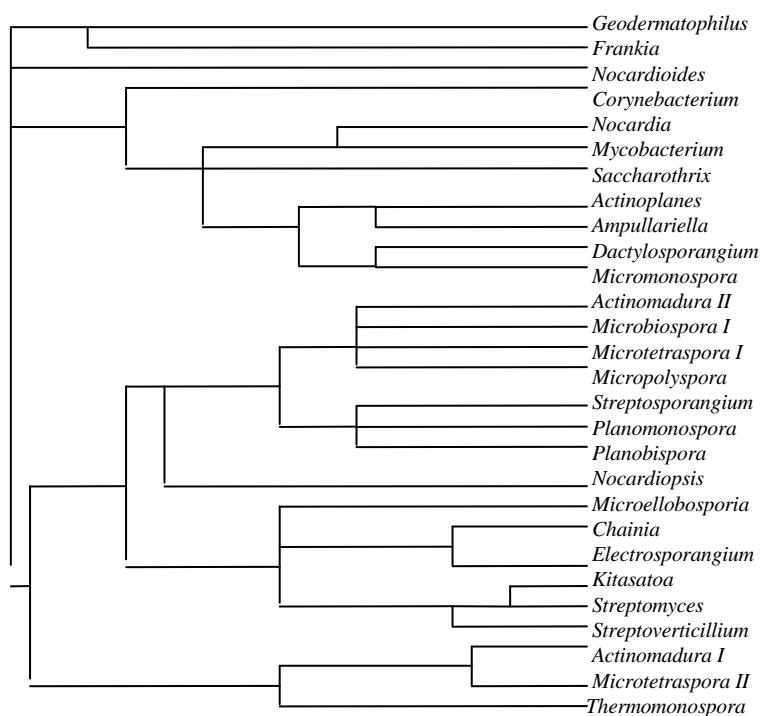


A rendszertani helyükre vonatkozó adatokat szolgáltató biokémiai analitikai technika csak a XX. század közepén erősödött meghatározó jellegűvé. Biokémiai rokonságra hivatkozva sorolják közéjük a spórákat nem képző Mycobacterium család tagjait, a Coryneform alcsoport családait, és a Nocardia-féléket. Az elkövetkezőkben a csoport jelentősebb nemzetségeinek típus törzsei szerepelnek. A név után zárójelben található az ATCC gyűjteményben megadott katalógusszám. A felsorolást néhány patológiai vagy biotechnológiai szempontból kiemelt család részletesebb tárgyalása egészíti ki. Megjegyzendő, hogy ipari jelentőségük és szabadalmaztathatóságuk miatt a rendszertani besorolásuk nem minden esetben állja a tudományos kritikát. (Williams et al. J. Gen. Microbiol. 129:1815-30. 1983)

**Filogenetikai kapcsolatot szemléltető dendrogram , amely a16S rRNS hasonlóság alapján készült**

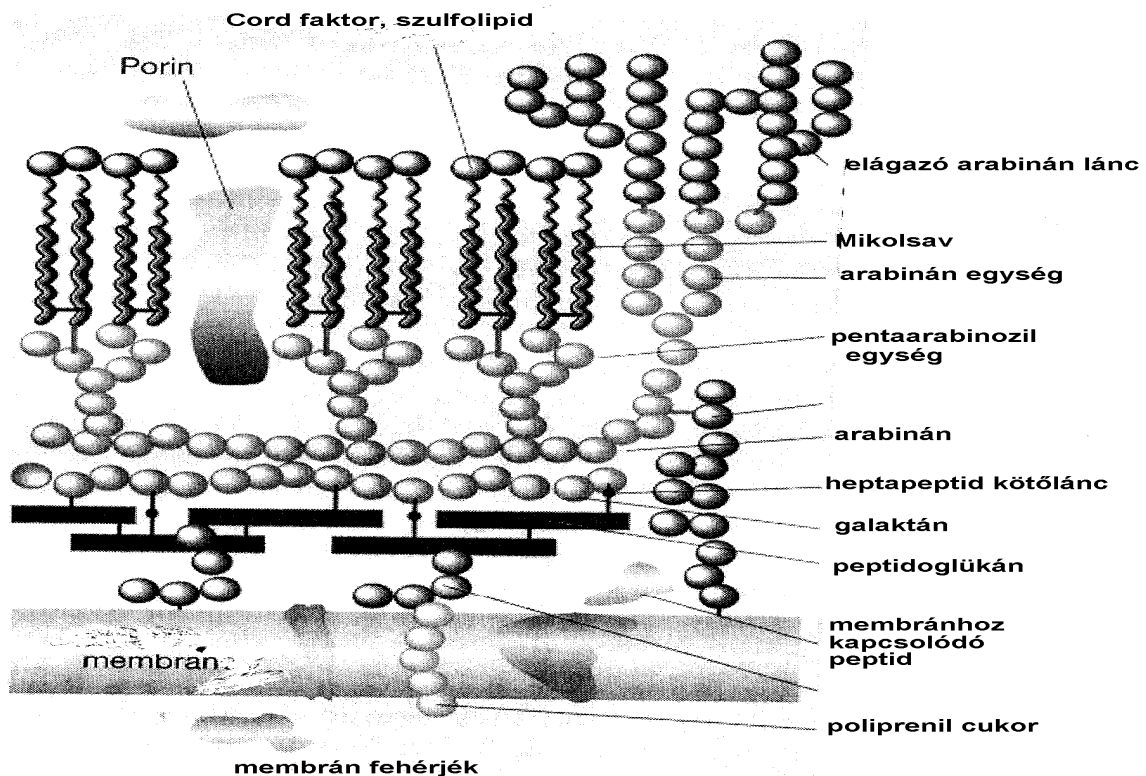


**Dendrogram, amely a sejtfa-összetétel (mureinsav, szénhidrát, foszfolipid, zsírsav, mikolsav, menakinon tartalom) hasonlósága alapján készült-**

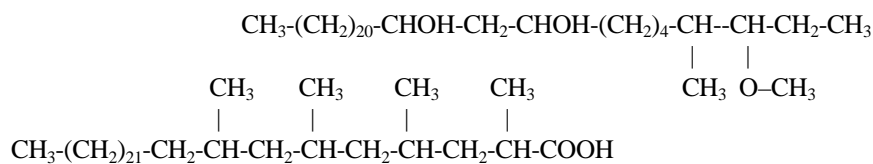


## MYCOBACTERIALES

A *Mycobacterium* nemzetség kórokozó tulajdonságára tekintettel külön fejezetet érdemel. Fonális alakot nem képző, nem spórázó, savállóan festődő, nem mozgó Gram-pozitív baktériumok. Obligát aerobok. A peptidoglükánvázban a mezo-diaminopimelinsav nyer fontos szerepet a peptidláncok közötti kapcsolat kialakításában. Mikolsavban gazdag sejtfalstruktúrájukhoz ionosan kötődő bázikus fukszin savas alkohollal sem távolítható el. Ez lehet az oka Gram-pozitív festődésüknek is. — Igen lassan, 12 óra generációs idővel osztódó baktériumok. Elektronmikroszkóppal készített felvételeken feltűnően vékonynak tűnik a peptidoglükán sejtfal, amely jelentős glükopeptid-tartalma miatt lizozimmal jól bontható. A citoplazmában jól látható a lamellás szerkezetű mezoszóma, a glükogén szemcsék és a volutin (polimetafoszfát) rögök. Laboratóriumi tenyészetben a kokkoid alaktól a fonálkezdeményig változó alakban jelenhetnek meg. Gyakran szalagszerűen helyezkednek el a táptalajon. A szalagszerű elhelyezkedés a sejt külső felületén található Cord-faktornak tulajdonítható. A *Mycobacterium* sejtekből semleges szerves oldószerekkel, például petroléterrel különböző összetételű viaszok (D-viasz) és úgynevezett mikozidok (Cord-faktor) különíthetők el. Az immunogén D-viasznak nevezett frakció arabino-galaktózamin oligomerje közvetlenül a peptidoglükán-réteg felett található és foszfátészterrel kötődik a muraminsav C-6 csoportjához. A galaktózamin amidkötéssel is kapcsolódhat a mureinrétegből kinyúló heptapeptidekhez. Az arabinózhoz észterkötéssel kapcsolódik az  $\alpha$ -helyzetben elágazó  $\beta$ -hidroxi zsírsav, a mikolsav (Arch. Biochem. Biophys. 98:283-89. 1962). A párhuzamos mikolsavláncok közé ékelődnek a Cord-faktor és a szulfolipid hidrofób részei. Ezek az alkotóelemek a trehalóz, illetve a szulfotrehalóz mikolsavval alkotott észterei.

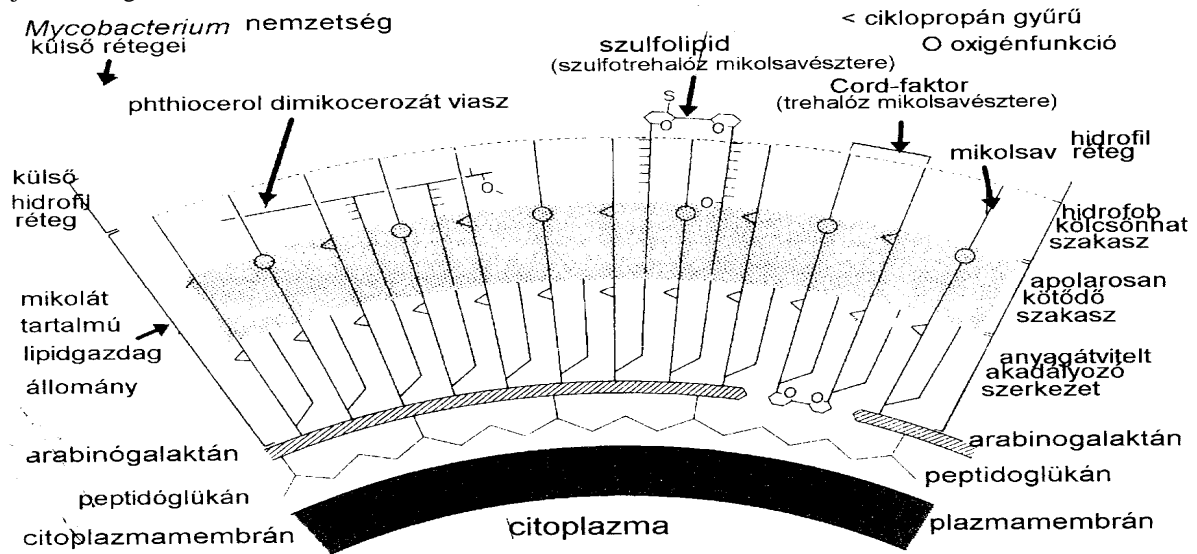


A Cord-faktor különleges glikolipid, amelynek szénhidrátösszetevője (6,6'-dimikolil-trehalóz) a sejtburkok külső felületén található. Ugyancsak a külső felületen helyezkedik el a szulfolipidfrakció szénhidrát alkotórésze. A külső lipidréteg alsó harmada a felépítéséből adódóan jelentősen akadályozza az anyagfelvételt. E fölött helyezkedik el a Cord-faktor és a szulfolipidek hidrofób láncai. A hidrofób szakaszból nyúlnak a mikolsav láncok közé a phthiocerolok hidroxil csoportjait észterező mikocerozátok apoláros láncai.

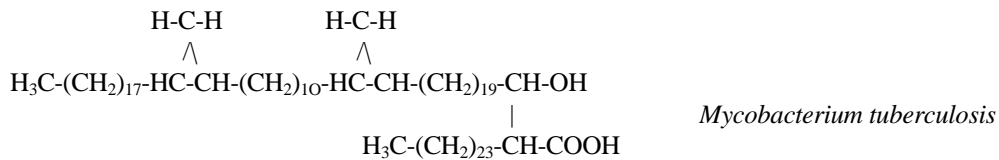
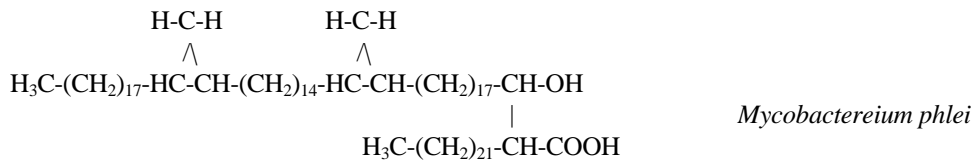
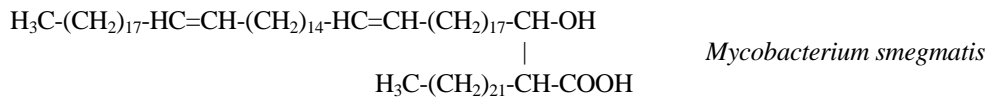


A sejtfalból egy változatos összetételű foszfatid-frakció is elkülöníthető, amely a megfertőzött szervezet válaszreakciójának kialakulásában fontos szerepet játszik. A sejtfal bonyolult felépítése több mint 30 különböző antigén felismerésére vezetett.

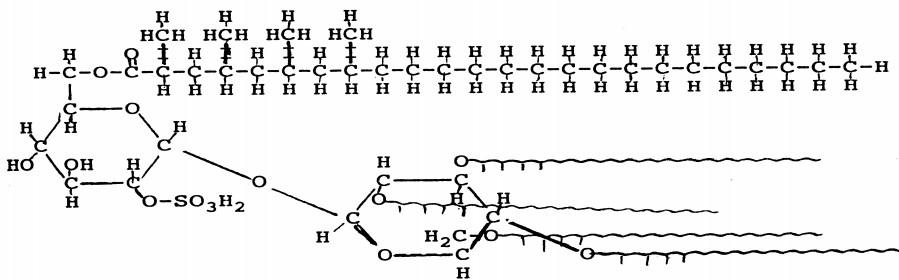
A vázlatos rajz megkísérli bemutatni a peptidoglikán falhoz kapcsolódó lipidben gazdag kültakarót, amely a lejutásukat nehezíti.



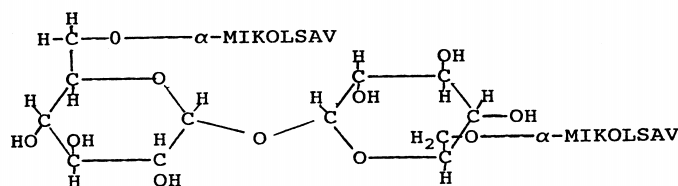
**α-MIKOLSAVAK**



**SZULFOLIPID (szulfotrehalóz mikolsavésztere)**



**CORD-faktor (Trehalóz mikolsavésztere)**



A humánkórokozóként ismert *Mycobacterium tuberculosis* (ATCC 27294) törzset R. Koch mutatta ki 1882-ben különleges festési módszerével. A karbolfuksinnal melegítve festett készítményből sósavas alkohollal a festék a TBC bacillus kivételével eltávolítható. A sejtburrok feltűnően nagy lipidtartalma (60 %) akadályozza a festék eltávolítását. A lipidburrok fokozza a hőtűrésüket. Ezért a tej pasztörözése nem mentesíti a tejterméket a *Mycobacterium* fertőzéstől. Végül is csak a pozitív állatok kiselejtezése vezetett eredményre.

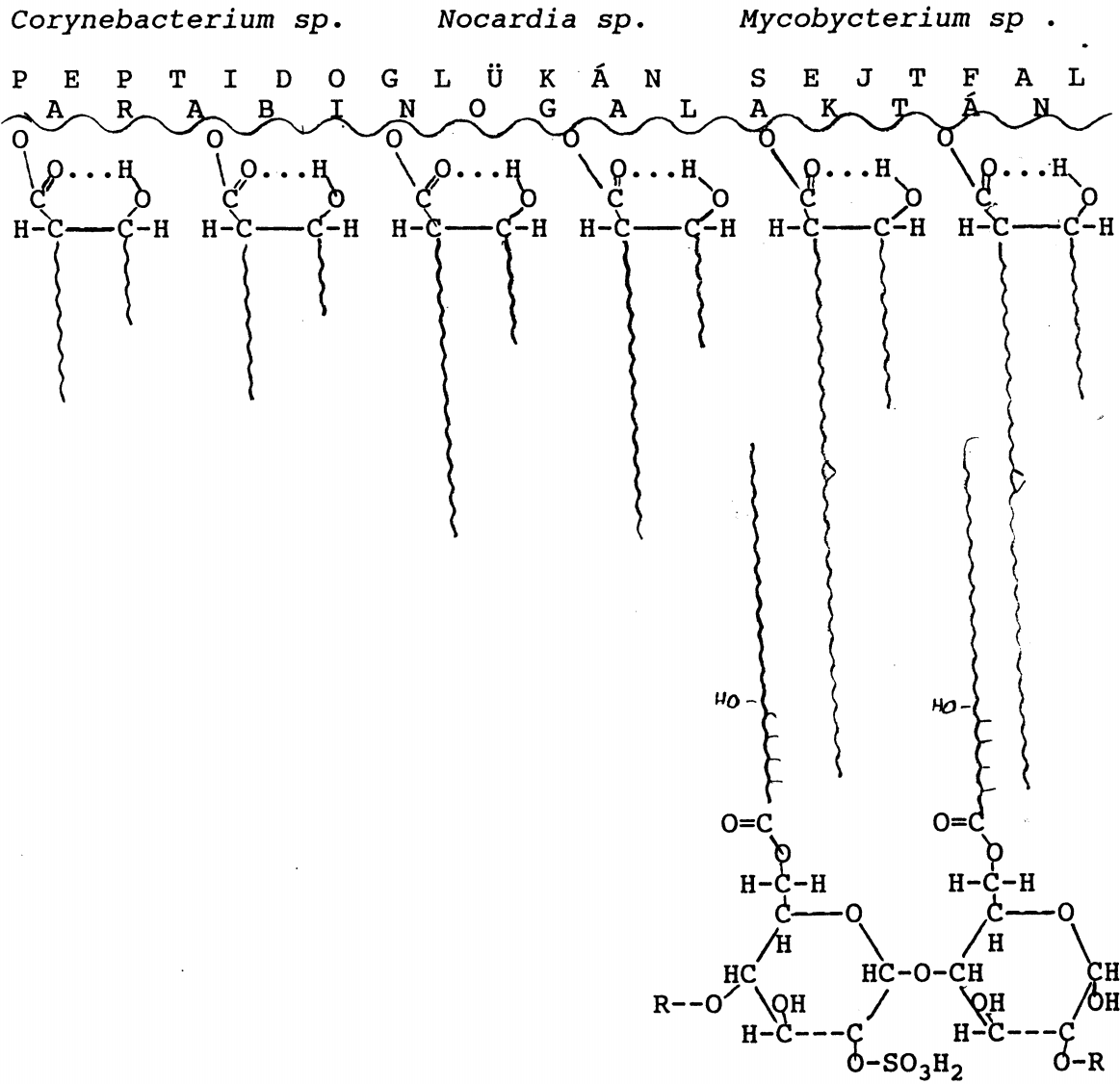
A "Koch-bacillus" patogén volta a molekuláris biológiai vizsgálatát is indokolta. S. T. Cole és 41 munkatársa az 1905-ben izolált, jólismert H37Rv törzs teljes genomjának szekvenálását elvégezték (Nature 393:537-544. 1998). A 4,411,529 bázispárt tartalmazó genom közel 4000 féle fehérje információját hordozza.

A szervezet válaszreakciói közül az egyik jól ismert folyamat a gümőképződés, a regionális nyirokcsomók elsajtosodása, elmeszesedése, amely a folyamat későbbi szakaszában figyelhető meg. A virulens kórokozók betokozódva hosszú ideig megőrzik életképességüket. Szerencsétlen esetben a góc szétesése fertőzőforrásként a környezet számára is veszélyt jelent. Az első fertőzés után a szervezet bizonyos rezisztenciára tesz szert, de átmenetileg a fertőzéssel szembeni érzékenység is fokozódik. A folyamat a makrofágok aktiválódásával fejeződik be. — Az immunológiai hatás élő, legyengített *Mycobacterium bovis* törzsek (19210) adagolásával is kiváltható. Az esetleges fertőződés elkerülése céljából a BCG (**B**acille **C**almette **G**uérin) oltás csak tuberkulin negatív, tehát fertőzésen még át nem esett személynek adható. A fertőzés leküzdésére hatásos gyógyszerek állnak rendelkezésre (izonikotinsavhidrazid, p-aminoszalicilsav, sztreptomycin, rifampicin, etambutol, cikloszerin). Ezeket a szereket a mikroba lassú növekedési üteme miatt meglehetősen hosszú ideig kell adagolni. Az életkörülmények javítása és a gyógyszerek alkalmazásával a TBC (tüdőbaj) népbetegség jellege a kultúrállamokban visszaszorult.

Rendszertanilag ide sorolható a *Mycobacterium leprae*, a lepra kórokozója. A rokonságot igazolja, hogy a BCG védelmet jelent a fertőzéssel szemben. Világszerte, főleg a fejlődő országokban élő 12 millió betegről tud a hivatalos nyilvántartás. A megtámadott szervezet sejtjeiben élve fejtik ki káros hatásukat. Lassú fejlődésük miatt a fertőzést követő lappangási idő 3-5 esztendő lehet. Majmok, valamint az armadillo (*Dasypus novemcinctus*) fertőzhetőségét is észlelték.

Az utóbbi időben *M. avium* okozta fertőzések megjelenése, valamint más atípusos *Mycobacterium* fajok által okozott kóros esetek megszorodása figyelmet érdemel. Az atípusos, talajban élő szaprofita fajok (*M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. fortuitum*, *M. porcinum*, *M. vaccae*) az emberi szervezetbe kerülve adott esetben súlyos kórképet okozhatnak, ezért potenciálisan patogéneknek tekintendők. Ezek a törzsek lényegesen gyorsabban szaporodnak. Különlegességük, hogy 5 % nátrium-kloridot tartalmazó táptalajon is jól növekednek. A lipidburkuk miatt leküzdésükre a fent említett antibiotikumok használata indokolt. A BCG-oltás viszont nem jelent védelmet ellenük.

A három nagy csoport az arabino galasktánhoz csatlakozó lipidek szerkezetében is jelentős mértékben eltér.



## CORYNEBACTERIUM félék

A *Corynebacterium* nemzetség képviselői rövid, enyhén görbült, hegyesedő végű pálcák. Mezo-diaminopimelinsavat tartalmazó peptidoglikán sejtfalukban arabinóz és galaktóz fordul elő. Nem mozgó fakultatív anaerobok. Külső lipidrétegükben rövid szénláncú (22-36 C) mikolsavak kapcsolódnak az arabinogalaktán polimerhez.

Típustörzsük a diftéria kórokozójaként izolált *Corynebacterium diphtheriae* (ATCC 27010). Krause *Bacillus diphtheriae* néven írta le 1886-ban. Polimorf, mindkét végén kissé duzzadt pálcák (G+C 51-59 %). Osztódáskor nem válnak el a baktériumsejtek, hanem sugárszerűen, fonalas alakban helyezkednek el. Lipidoldékony pigmentjükben nyolc izopren-egységből felépült lánchoz kapcsolódó menakinon fordul elő. A sejtfal arabinózt galaktózt és mannózt tartalmaz.

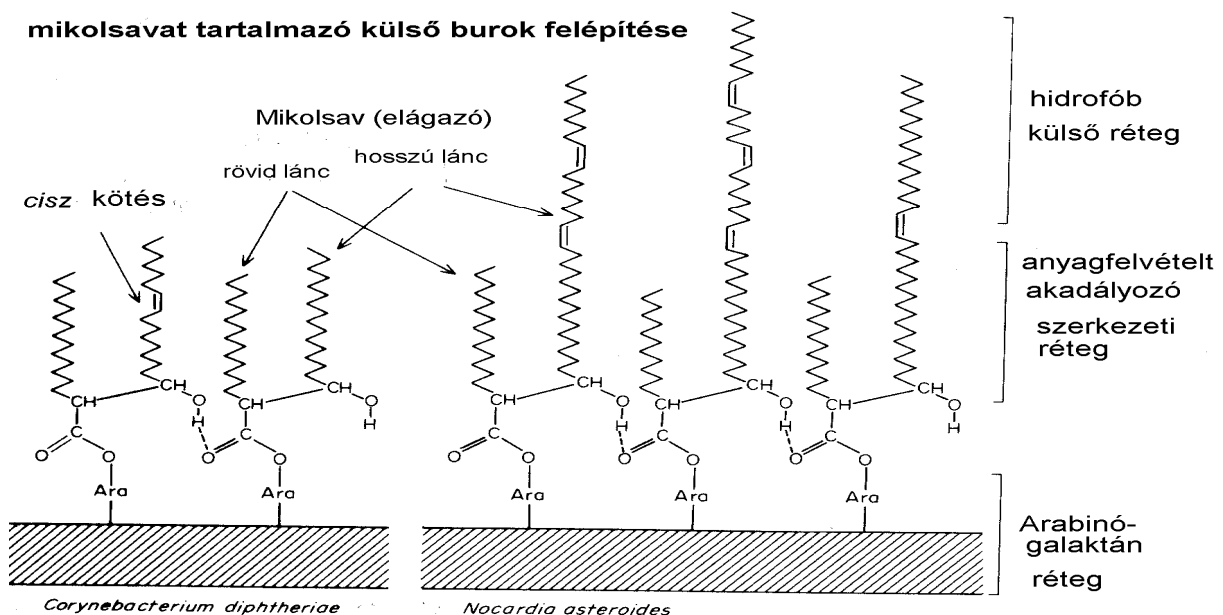
Az emberre és állatra patogén kórokozó légúti megbetegedést okoz. Már Hippokrates is említést tesz róla. A diftéritis elnevezés Pierre Bretonneau-tól származik, aki felismerte a betegség fertőző jellegét. A kórokozó torokkenetből való kimutatása Klebs érdeme. Egy év múlva 1884-ben Löffler már a tengeri malacon is betegséget kiváltó tiszta tenyészetét állítja elő. A betegség sok esetben halálos kimenetelét okozó toxin képződését Roux és Yersin 1888-ban mutatta ki, és 1891 karácsonyán már az első eredményes antitoxinkezelésre is sor került. A toxin-antitoxin komplexet először Theobald Smith használta 1909-ben immunizáló ágensként.

Freeman 1951-ben fedezte fel, hogy a toxint termelő kórokozók temperált fággal fertőzöttek. A fággenom tartalmazza a toxin információját. A törzset a fágmentesítés avirulenssé teszi. A fággal fertőzött *C. diphtheriae* két diszulfid-kötéssel merevített, 62 kDa méretű, biológiailag inaktív fehérjét termel, amelyet utólag aktivál egy proteáz, például a tripszin. A felszabaduló 24 kDa méretű "A" fragmentum (10 µg a halálos adag) a fehérjeszintézis transzlokációs faktorát inaktíválja. A NAD<sup>+</sup>-ot hasítva ADP-ribozil-EFG-t hoz létre. Megakadályozza a fehérjeszintézishez nélkülözhetetlen EFG-GTP komplex képződést. Egyetlen toxinmolekula néhány óra alatt a sejtben működő összes EFG-faktort inaktíválja.

Kinoshita és munkatársai 1958-ban izoláltak egy glutaminsavtermelésre használható mikroorganizmust eredetileg *Micrococcus glutamicus* néven. A sejtfal mikolsavtartalma miatt ma *C. glutamicum* néven (ATCC 13032) tartja számon a szakirodalom. A törzsből később más esszenciális aminosavak (lizin, treonin) előállítására alkalmas mutánsokat nyertek, amelyeket világszerte tápanyagkiegészítőként hasznosítható aminosavak nagyüzemi gyártásához használnak.

Botanikusok nagy számban izoláltak növény-specifikus *Corynebacterium* fajokat (*C. tritici*, *C. michiganense*, *C. iranicum*, *C. nebraskense*), amelyeket a részletes rendszertani felülvizsgálat alapján ma a *Clavibacter* nemzetségbe sorolnak.

Számottevő a különbség a *Corynebacterium* és a *Nocardia* arabinó-galaktán réteghez kapcsolódó külső burok szerkezeti felépítésében.

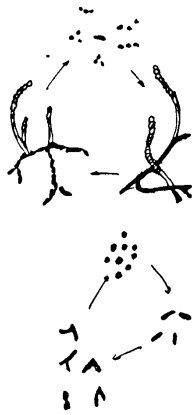


## NOCARDIA alakúak (NOCARDIALES)

Különleges tulajdonságú, szabálytalan alakú, nem spórázó szervezetek. Fonalat nem képeznek, vagy ha igen, akkor rövid idő alatt kokkoid, bacilloid alakokra esnek szét. Sejtfaluk mezo-diaminopimelinsavat tartalmaz. Membránjuk foszfatidil-glicerint, inozitolt, illetve inozitol-mannozidot tartalmaz.

Különlegességük a sejt falon kívül található lipidgazdag réteg, amely családonként jellemző különbséget mutat. Ezt a lipidréteget az arabinogalaktán réteghez kapcsolódó mikolsavak alkotják. (Lásd a Mycobacteri fejezetben.) A mikolsav olyan elágazó hidroxisav, amelyben telítetlenség, oxirán-csoport vagy ciklopropil szerkezet fordulhat elő. Az OH-csoport hidrogénkötéssel kapcsolódik a szomszédos mikolsav-észter karboniljához. Ezeknek a szervezeteknek a külső hidrofób régiója érintkezik a hidrofil külvilággal. A külső lipidréteg szerkezetében megfigyelhető hasonlóság erősíti a rendszertani kapcsolatot a három csoportra különítve tárgyalható szervezetek között. A mycobacteriumoknál a szulfolipid poláros csoportja találkozik a környezettel.

A Nocardia-félék közül legismertebb a nocardiózist okozó, egyébként talajlakó *Nocardia asteroides* (ATCC 19247), amely agar táptalajon bakteroid alakra széteső, elágazó fonalat alkot. (A lég-micéliumból artrospórák fűződnek le.) Membránjuk foszfatidil-etanolamint tartalmaz. Sejt falukban N-glikolil-muraminsav fordul elő. Szennyvíztisztító telepek aktív iszapjában is előfordul. Sok esetben vérszívó ízeltlábúakkal él szimbiózisban.

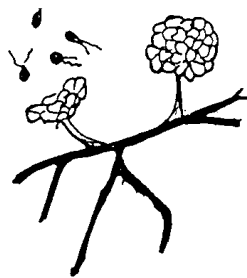


*Caseobacter polymorphus* (NCDO 2097). Kemény és lágy sajtok felszínén található, alakváltoztató baktériumok. Friss táptalajon a kokkoid alak pálcikává fejlődik. A pálcák rácsszerűen vagy V alakban helyezkednek el. A sejt fal galaktózt, mannózt, arabinózt és mikolsavat tartalmaz.

*Rhodococcus rhodochrous* (ATCC 13808). Változatos alakú, talajban és növényevők ürülékében előforduló patogén mikroba, amely vérszívó ízeltlábúakkal is élhet szimbiózisban. Mikolsavainak mérete 36-50 C között változik.

Megjegyzendő, hogy az utóbbi évtizedekben sok fonalas prokariota törzset helytelenül Nocardia néven írtak le. Ezek jellemzően többek között nem tartalmaznak mikolsavat. Ilyenek például az ansa-láncú antibiotikumot (rifamicin) termelő törzsek.

## ACTINOPLANACEAE

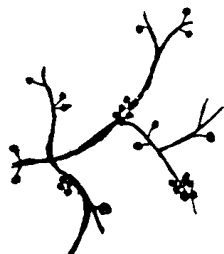


A család tagjai erős fonalat képző, nem saválló, Gram-pozitív prokarioták. Sejtfalukban diaminopimelinsav (meso-DAP) és 3-hidroxi-diamino-pimelinsav fordul elő. Mozgékony vagy nem mozgó spóráik különleges sporangiumokban képződnek.

*Actinoplanes philippinensis* (ATCC 12427). Semleges kémhatású talajból, hulladékból izolálható. Finom fonalakból álló, elágazó micéliumon megjelenő sporangiumokból szabadulnak ki a zoospórák (Arch. Microbiol. 128:53, 1980). A kiszáradt talajmintát újra nedvesítve megjelennek a spórák és a számukra kívánatos kitint tartalmazó üvegapillárisokba vándorolnak. Egyébként antibiotikumot is termelnek (Ann. Rev. Microbiol 33:389).



*Dactylosporangium aurantiacum* (ATCC 23491) δακτυλι kézujj. Tőfenékről izolálható, antibiotikumot termelő talajlakó. Zoospórái ujszerű sporangiumokban képződnek. A táptalajba süllyedt micéliumról gömbszerű, nem mozgó spórák fűződnek le. Mezo-diaminopimelinsav tartalmú sejtfalukban glicinben gazdag murein fordul elő.



*Micromonospora chalcea* (ATCC 12452). Finoman elágazó fonalakból álló telepet képez. Spórái hosszabb-rövidebb spórahordozókon fejlődnek. Izolálásukat spóráik feltűnő hőtűrése segíti (80°C, 12 perc). Ha a vízpartról gyűjtött talajmintát fél órán keresztül 70 fokra melegítve tartjuk és utána szélesztjük szelektív táptalajra, leginkább *Micromonospora* törzseket izolálhatunk. A membrán foszfatidil-inozitot és ennek mannozid származékát tartalmazza. Főleg aminoglikozid antibiotikumok változatait termelik

(például gentamicint termelő *M. echinospora* 125837).

## ACTINOBACTERIA család

Actinobacteriaceae család tagjai talajból izolálható, nem saválló, Gram-pozitív, aerob kokkuszosok. A típus törzsnek tekintett *Arthrobacter globiformis* (ATCC 8010) peptidoglikán sejtfala nem tartalmaz glicint, diaminosavként lizin található benne. A sejtfal galaktózt, glükózt, ramnózt, mannózt tartalmaz. Fonális alakja valójában kokkuszfűzér.

Az *A. simplex* (ATCC 6946) néven szereplő törzs (Can. J. Microbiol 3:35-42. 1957) eredetileg 1934-ben *Corynebacterium simplex* néven került leírásra. A sejtfala LL-DAP-at tartalmaz. 1982-ben a nevét és rendszertani helyét *Nocardioides simplex*-re változtatták (Arch. Microbiol 133:323-29). A prednizonon előállításakor a törzs  $\Delta^1$ -dehidrogenáz aktivitását hasznosítják.

*Brevibacterium lineus* (ATCC 9172). A törzset sajt felületéről izolálták, ahol az ízanyagképzésben van szerepe. A sejtfal mezo-diaminopimelinsavat,

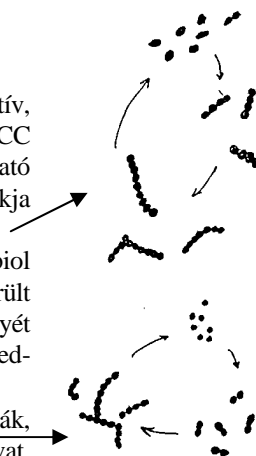
galaktózt és glükózt tartalmaz. Fehérjedús táptalajon sárga telepeket fejleszt. A teichoinsav glicerint, ribitolt és mannitot tartalmaz.



*Renibacterium salmoninarum* (ATCC 33209). Ciszteint tartalmazó táptalajon 15-18 °C-on fejlődik. Lazactenyészítő telepeken járványt okozhat. A kórokozó a halak veséjéből izolálható. Eredetileg *Corynebacterium* törzsként írták le. Lizint tartalmazó sejtfalában glükóz, arabinóz, mannóz, ramnóz fordul elő.



*Rothia dentocariosa* (ATCC 17931). Szerves nitrogénforrást igénylő, főleg kokkoid alakban előforduló fakultatív anaerob baktérium. A szájüregben gyakorta előfordul, de fertőzősként vérből és az agy-gerincvelői folyadékból is izolálták. Glükózt fermentálva tejsavat, ecetsavat, hangyasavat, borostyánkősavat termel.





*Curtobacterium citreum* (ATCC 15828). Fitopatogén, főleg kokkoid alakban előforduló, átmenetileg mozgékony aerob baktérium. Sejtfalában galaktóz és ornitin fordul elő.

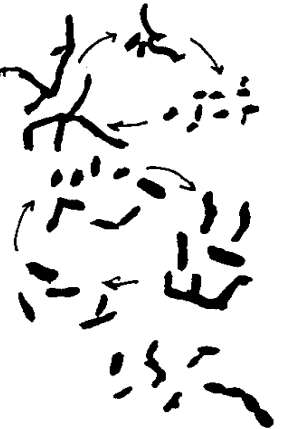
*Cellulomonas flavigena* (ATCC 482) Cellulózbontó, fakultatív anaerob talajlakó. Glükózból oxidatív úton és fermentációs körülmények között is savat képez. Mozcékony alakban is megjelenik.

*Microbacterium lacticum* (ATCC 8180). Kataláz-pozitív aerob törzs, B<sub>2</sub>-vitamint igényel. Sejtfalában galaktóz, ramnóz, mannóz fordul elő. L(+)-tejsavat képez. Főleg tejtermékekben fordul elő. A tejport is fertőzi, mert a porlasztva szárítást (niro) is túléli.



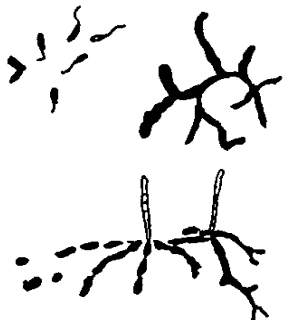
*Arachnia propionica* (ATCC 14157). A normál szájflóra tagja, de okozhat aktinomikózist is. Sejtfala glicint, LL-DAP-t, aszparaginsavat, galaktózt, glükózt, mannózt tartalmaz. Kataláz-negatív, fakultatív anaerob. Glükózból propionsavat fermentál. Mikrokolóniái fonalas szerkezetűek. Légmicéliumán spórát nem fejleszt. A telep felszíne fényes.

*Actinomyces bovis* (ATCC 13683). Szájüregben előforduló, patogén természetű, fakultatív anaerob baktérium. A sejtfalban lizin, aszparaginsav, ornitin, fukóz, 6-dezoxitalóz és ramnóz található.



*Agromyces ramosus* (ATCC 25173). Sejtfalában 2,4-diamino-vajsav és glicin található. Hidrogénperoxidot termelő, szerves nitrogénforrást igénylő talajlakó.

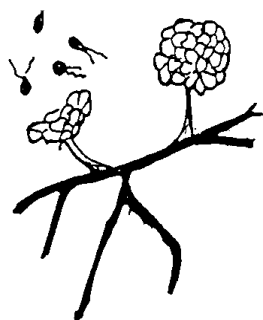
*Arcanobacterium haemolyticum* (ATCC 9354). Patogén, hőálló (60 °C, 15 perc), véres agaron széndioxid atmoszférában jól növekedő baktérium.



*Oerskovia turbata* (ATCC 25835). Sárga telepekben növekedő fonalas alakja mozgékony pálcákra esik szét. Fakultatív anaerob. Nitrátredukáló talajlakó, de a szénát is fertőzheti. Több esetben endocarditis kórokozójaként azonosították. Sejtfaluk lizint, galaktózt, D-aszparaginsavt, D-szerint, L-treonint tartalmaz.

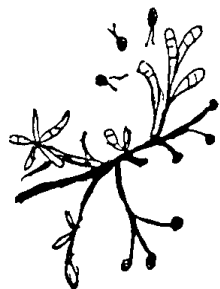
*Promicromonospora citrea* (ATCC 15908). Sárga telepeket alkotó talajlakó. Hideg és hőtűrő 10-48 °C-on jól szaporodik. Légmicéliumot és szubsztrátmicéliumot fejleszt. Általában nem mozgó bakteroid alakokra esik szét. Ritkán spórát fejleszt. Sejtfala lizint tartalmaz.

## ACTINOPLANACEAE

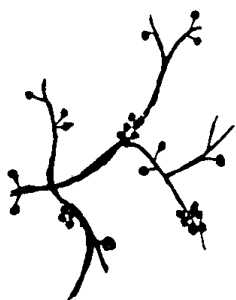


A család tagjai erős fonalat képző, nem saválló, Gram-pozitív prokarioták. Sejtfalukban diaminopimelinsav (meso-DAP) és 3-hidroxi-diamino-pimelinsav fordul elő. Mozgékony vagy nem mozgó spóráik különleges sporangiumokban képződnek.

*Actinoplanes philippinensis* (ATCC 12427). Semleges kémhatású talajból, hulladékból izolálható. Finom fonalakkal álló, elágazó micéliumon megjelenő sporangiumokból szabadulnak ki a zoospórák (Arch. Microbiol. 128:53, 1980). A kiszáradt talajmintát újra nedvesítve megjelennek a spórák és a számukra kívánatos kitint tartalmazó üvegapillárisokba vándorolnak. Egyébként antibiotikumot is termelnek (Ann. Rev. Microbiol 33:389).



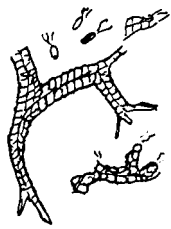
*Dactylosporangium aurantiacum* (ATCC 23491) δακτυλι kézujj. Tófenékről izolálható, antibiotikumot termelő talajlakó. Zoospórái ujszerű sporangiumokban képződnek. A táptalajba süllyedt micéliumról gömbszerű, nem mozgó spórák fűződnek le. Mezo-diaminopimelinsav tartalmú sejtfalukban glicinben gazdag murein fordul elő.



*Micromonospora chalcea* (ATCC 12452). Finoman elágazó fonalakkal álló telepet képez. Spórái hosszabb-rövidebb spórahordozókon fejlődnek. Izolálásukat spóráik feltűnő hőtűrése segíti (80°C, 12 perc). Ha a vízpartról gyűjtött talajmintát fél órán keresztül 70 fokra melegítve tartjuk és utána szélesztjük szelektív táptalajra, leginkább *Micromonospora* törzseket izolálhatunk. A membrán foszfatidil-inozitol és ennek mannozid származékát tartalmazza. Főleg aminoglikozid antibiotikumok változatait termelik (például gentamicint termelő *M. echinospora* 125837).

## TÖBBREKESZES SPORANGIUMOT KÉPZŐ ACTINOMYCETES CSOPORT

Sejtfalában mezo-DAP található, mikolsavat nem tartalmaz. Hossz és keresztirányban szeptált hifákból kialakuló telepeken fejlődő sporangiumokból szabadulnak ki a mozgó vagy mozgásképtelen spórák.



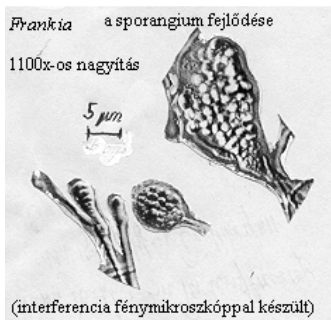
*Dermatophilus congolensis* (ATCC 14673). Aerob, illetve fakultatív anaerob, obligát patogének. Szarvasmarhák és juhok gondozói számára is veszélyt jelenthetnek. A fertőzés helyét fedő var felszakadása után ki-szabaduló zoospórák újabb gazdát fertőzhetnek, vagy a talajba kerülve hosszabb ideig életképesek maradnak. Laboratóriumi körülmények között szerves anyagban gazdag táptalajon 10 % széndioxid jelenlétében 37 °C-on tenyészthetők.



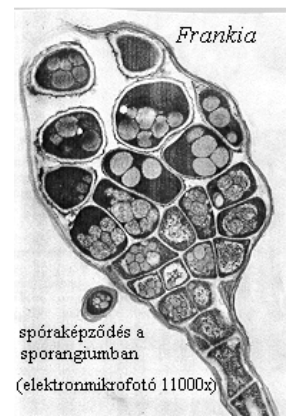
*Frankia alni* (ATCC 33029). Gazdanövényre (*Alnus glutinosa*) specifikus endofiton. A gyökérszövetben kialakuló nodulekban elburjánzó szervezet. Mikroaerofil laboratóriumi körülmények között *in vitro* is képes nitrogénkötésre. A fonalain 3-5 µm méretű vezikulumok képződnek. A sporangiumaik 25-33 µm méretűre növekednek. *Frankia* törzseket izoláltak a Betulaceae, Eleagnaceae, Rhamnaceae, Rosaceae, Casuarinaceae család gyökereiből. A sporangium *Comptonia peregrina* gyökérgümömből izolált *Frankia* törzs tenyésztésén képződött



*Geodermatophilus obscurus* (ATCC 25078). Telepet képző talajlakó. Sivatagból és a Mount Everest-ről is izolálták. Szeptált fonalakat képez. Az érett telepekből mozgó és nyugvó spórák szabadulnak ki.



A *Frankia* szubsztrátmicélium végein fejlődő sporangium alsó szakaszán folyamatosan képződő spórák érett alakban hagyják el a sporangiumot



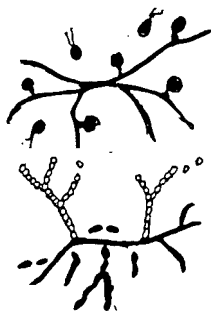
## STREPTOMYCETACEAE

Dús micéliumot fejlesztő talajlakók. Szubsztrátmicéliumuk általában nem töredezik bakteroid alakokra. Agar táptalajon jellegzetes színes telepet alkotnak, a táptalajba pedig különböző, fajokra jellemző festékanyagot választanak ki. A táptalaj fölé emelkedő légmicéliumokon spóraláncok fejlődnek.

A sejtfaluk LL-diaminopimelinsavat tartalmaz, amelyet glicin-pentapeptid kapcsol a következő muramilpeptidhez. Lizozimmal a sejtfal és a spóra fala nehezen bontható. A sejtmembránjukban nagy mennyiségű alifás, valamint izo- és anteizo-szerkezetű zsírsav, izoprén- egységekből felépülő menakinon, difoszfatidil-glicerol, foszfatidil-etanolamin, foszfatidil-inozitol, valamint inozitol-mannozid található.



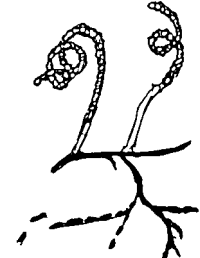
*Intrasporangium calvum* (ATCC 23552). Aerob, nem fragmentálódó finoman elágazó hifákból álló telepeket fejleszt, légmicéliumot nem képez. A sporangium a 2 µm átmérőjű spórával a hifán interkaláris megvastagodásként található. A spóra 28-30 °C-on egy-két csíratömlőt fejleszt. Régebben Actinoplanaceae, később a Streptosporangiaceae családba sorolták őket.



*Kineosporia aurantiaca* (ATCC 29727). A nemzetség eddig ismert egyetlen képviselője, amely 20-30 °C-on nő, 37 °C-on nem fejlődik. A szubsztrátmicéliumán kialakuló spórái mozgékonyak.



*Nocardioides albus* (ATCC 27980). Pigmentet nem termel. Aerob, nem saválló, halványsárga telepeket alkot. Szubsztrátmicéliuma rövid pálca és kokkoid alakra töredezik. Légmicéliuma spóralánccá alakul.



*Sporichthya polymorpha* (ATCC 23823). Főleg légmicéliumot fejlesztő, 22-44 °C-on tenyésztethető talajlakó. A fiatal hifák Gram-negatívan, az öregedő fonalak Gram-pozitívan festhetők.



*Streptomyces albus* (ATCC 3004). Légmicéliuma spórákká alakul, de szubsztrátmicéliuma is fragmentálódhat. A spóra, illetve a fragmentum általában egyetlen genomot tartalmaz. A spórák fizikai ellenállóképessége lehetővé teszi a vegetatív micéliumtól való elkülönítésüket rövid ideig ható ultrahangkezeléssel. Az ide tartozó törzsek savtűrés és hőtürés szempontjából igen eltérőek lehetnek.



*Streptoverticillium baldaccii* (ATCC 23654).. Közismert talajlakó. Szubsztrátmicéliuma nem töredezik fel. Légmicéliumán a spórák kis ágacskákon képződnek. A *Streptomyces* törzssel összehasonlítva sejtfaluk lizozimmal nehezebben bontható.

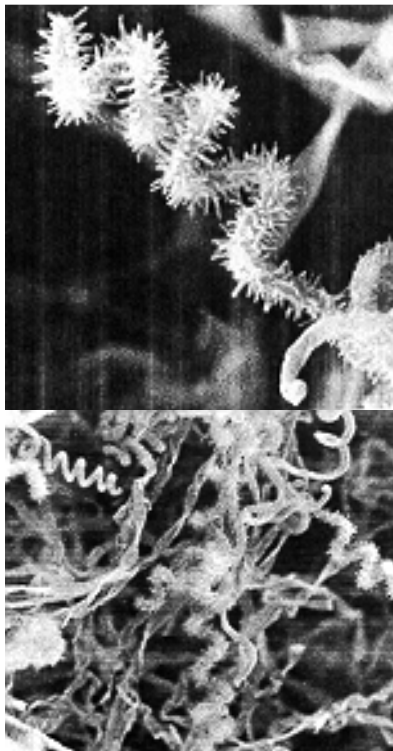
## STREPTOMYCES FAJOK ÉS AZ ANTIBIOTIKUM TERMELÉS

A *Streptomyces* fajokra jellemző bonyolultan differenciálódó anyagcsererendszer működése a talajbiológia fontos tagjává avatja őket. A szubsztrátmicélium és a légmicélium funkcionálisan eltérő feladatot látnak el. A spóráképzésben kiteljesedő differenciálódási folyamat különleges szabályozási mechanizmusok működését igényli. Természetes élőhelyük változatos fizikai és kémiai körülményei, csak nagy ellenállóképességgel, kellő adaptációs készséggel, azaz gazdag génállománnyal rendelkező törzsek fennmaradását tette lehetővé. Amíg az eubaktériumok magállománya általában 4 Mb körüli értéket mutat, az idesorolt fonalas szerkezetű prokarioták magállománya eléri a 8 Mb mérettartományt. Halofil fajaikról is tudunk.

A telepekben egyidejűleg van jelen a spórából kihajtott, még életképes legidősebb primer fonal és az egyre gyarapodó fiatal micéliumtömeg. A kolónia sok maganyagot kevés válaszfalat tartalmazó óriás sejtnak tekinthető. A telep körkörös elszíneződése és morfológiai elkülönülése élettani különbséget takar.

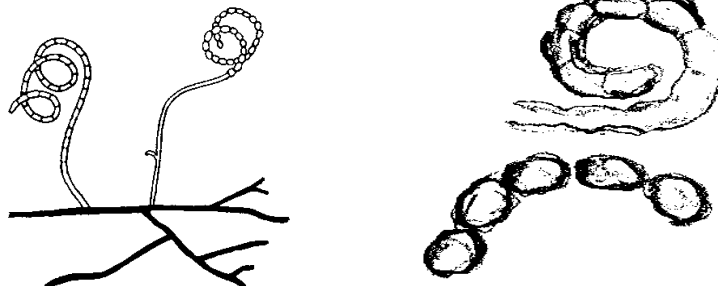
A Bergey's Manual VIII. kiadása 463 *Streptomyces* faj leírását tartalmazza. Az irodalom ennél jóval több törzsről tud. Sok fajuk antibiotikumot termel. Ezek a szekunder metabolitnak tekintett biológiai aktivitást hordozó vegyületek a létért folytatott küzdelemben hatásos fegyverének tekinthetők. A felfedezők vizsgálati módszereiket általában addig "finomítják", amíg az iparilag hasznosítható törzs szabadalmaztathatóság szempontjából új fajként szerepelhet. A fajon belül nem minden izolált példány termel kimutatható mennyiségben antibiotikumot. Ezért az ipari gyakorlatban törzsnek nevezik a gyakorlati felhasználásra kiválasztott, adott esetben kinemesített és törzsgyűjteményben deponált mikroszervezetet.

Ipari szempontból	jelentősebb törzsek neve	A hatásos anyag neve
	<i>Streptomyces rimosus</i>	Oxitetraciklin
	<i>Streptomyces griseus</i>	Sztreptomycin
	<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Aureomicin
	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Klóramfenikol
	<i>Streptomyces noursei</i>	Nisztatin
	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	Kanamycin
	<i>Streptomyces fradiae</i>	Neomicin
	<i>Streptomyces erythreus</i>	Eritromicin
	<i>Streptomyces cinnamomensis</i>	Monensin



A családba sorolt különböző fajnévvel rendelkező törzsek nagy számát a rendszertan szakemberei nem kevés kétkedéssel fogadják. Williams 400 független fajnévvel deponált "törzs" 139 karakterét vizsgálva tulajdonságaikat a numerikus taxonómia módszereit használva kritikus taxonomusként értékelte. Ennek alapján közülük 394-et ismert csoportba sorolhatónak ítélte (J. Gen. Microbiol. 129:1815-30. 1983). A 400 közül mindössze 6 megkülönböztethető fajt állapított meg.

A modern törzsfeljesztési eljárások modellként használt kísérleti alanyai is a nermzetség (genus) képviselői. A Sermonti és Hopwood által részletesen vizsgált *Streptomyces coelicolor* géntérképének felderítettsége miatt került a kutató laboratóriumok asztalára. Mai típus törzse *S. violaceoruber* (ATCC 14980).



*Streptomyces lividans* légmicélium átalakulása spóraláncá



## MADUROMYCETACEAE

Sejtfalukban a mezo-diaminopimelinsav közvetlenül kapcsolódik a szomszédos muramilpeptidhez. Különlegesség a sejtfalukban előforduló 3-O-metil-galaktóz. Egyes szerzők a *Thermomonospora curvata* és a *T. formosensis* rokon jeleit vélik felfedezni..

*Actinomadura madurae* (NCTC 5654). Szubsztrátmicéliuma nem fragmentálódik, a légmicéliumon jelenik meg a spórafüzér. Spóráinak hőtűrését kihasználva könnyen izolálható a talajmintából, amelyet légszáraz állapotban akár 100 °C-ra hevíthetünk (J. Ferm. Techn. 49:904-12 1971). Trópusi éghajlaton maduromikózist okozhat.

*Excellospora viridilutea* (INMI 187). Régebbi nevén micropoly-spora. A légmicéliumon képződő spórák érési folyamata hosszú. Az érett spórát vastagfalú tüskés tok borítja. Néha a szubsztrátmicéliumon is előfordul a spóráképzés. Idő előtti autólízis esetében életképtelen, éretlen spórák kerülnek a környezetbe.

*Microbispora rosea* (ATCC 12950). Hőtűrő spórái párosával helyezkednek el a légmicéliumon. B-vitamint tartalmazó táptalajon egy órán keresztül 120 °C-on tartott talajmintából is kifejlődik a telep.

*Microtetraspora glauca* (ATCC 23057). Vegetatív micéliuma nem fragmentálódik. Légmicéliumán a spórák négyesével képződnek. Hőtűrésük olyan nagy fokú, hogy a talajból viszonylag csekély számban való előfordulásuk ellenére könnyen izolálhatók. Célszerű izoláláskor a termőhely kivonatát a táptalajhoz adni, mert növekedésüket segítik a termőhelyükön található "növekedési faktorok". A *M. caesia* szubsztrátmicéliumán képződő spórák peritrich ostorral mozognak.

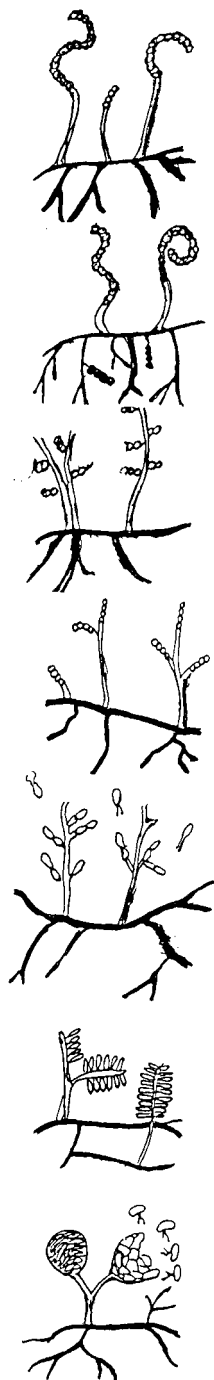
Közelrokoni jelek alapján egyesek ide sorolhatónak tartják a nem cellulolitikus, valamikor a *Thermomonospora* nemzetségbe sorolt *T. mesophila* és a *T. chromogena* fajokat.

*Planobiospora longispora* (ATCC 23867). Elágazó vegetatív hifái nem fragmentálódnak. A légmicéliumon kettesével megjelenő spórák kiszabadulva peritrich ostorral mozognak.

*Planomonospora parontospora* (ATCC 23863). Szubsztrátmicéliuma szilárd telepet alkot. Az ebből felnövő, ritkán elágazó légmicéliumon képződő sporangiumban párhuzamos sorokban helyezkednek el a fuziform spórák, amelyek leválás után fél órán keresztül mozgásképesek (lofotrich). A szakirodalomban antibiotikumot és proteázinhibitorokat termelő törzseik ismertek (J. Antibiot. 21:525. 1968, 28:611. 1975).

*Spirillospora albida* (ATCC 15331). Légmicéliumain (24 µm) nagyméretű sporangiumokban képződnek a mozgékony spóráik. Sejtfalukban kis mennyiségben hidroxidiaminopimelinsav fordul elő.

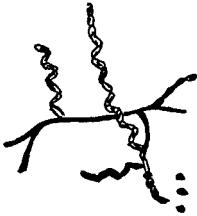
*Streptosporangium roseum* (ATCC 12428). Mozcékony spórái ugyancsak gömbalakú sporangiumokban képződnek.



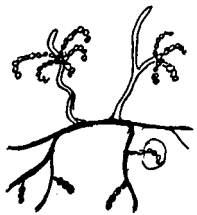
### THERMOMONOSPORACEAE



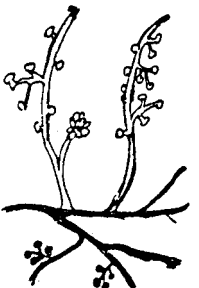
Mezofil és termofil fonalas prokarioták mesterséges csoportja. A menakinont rögzítő részben telített szénlánc tíz izoprénegységből szerveződött. *Actinosynnema mirum* (ATCC 29888). fűszálakról izolálható. Agar táptalajon kifejlődő, igen vékony szubsztrátmicéliumból emelkedik ki a 160-180 µm vastag, sárga telep. Érett állapotban a légmicéliumból lefűződő spórák peritrich ostorral mozognak. Folyékony táptalajon tenyésztve a szubsztrátmicéliumról is mozgékony spórák válnak le.



*Nocardiosis dassonvillei* (ATCC 23218). Gabonán, szénán is előforduló talajlakó, amely légúti fertőzést is okozhat. Szubsztrátmicéliuma kokkoid alakokra töredezik. Légmicéliuma változatos, cikk-cakk alakban darabolódik spórákká. A spórák fonalas szerkezetű burokból képződnek.



*Streptoalloteichus hindustanus* (ATCC 31217). Sóra érzékeny, sárgás légmicéliumot fejleszt. 50 °C-on is képes növekedni. Spórái jellegzetesen lehajló füzért alkotnak, néha szklerociumszerű képletben elhelyezkedve. Sporangiumszerű szervecskében a vegetatív hifán is képződhet 1-4 spóra. A nebramicin-csoportba tartozó antibiotikumokat termelő, magasabb hőfokon növekedő *Streptomyces tenebrarius* (ATCC 17920) spórái is szklerociumban képződnek, a vegetatív micéliumán azonban nem láthatók sporangiumok.



*Thermomonospora formosensis*, *T. curvata* (ATCC 19995). A spóratartón képződő spórák mozdulatlanok. Növekedésük optimális hőmérséklete 50 °C. Spórái azonban 90 °C-on 30 perc alatt elpusztulnak. Növényi komposztok és gombatermelő üzemek lakói. Az ide tartozó fajok menakinon komponensét 9-10-11 izoprén-egységből felépített, különböző mértékben telített szénlánc rögzíti a membránba. Egyes adatok szerint rokonsági kapcsolatban állhatnak az *Actinomadura* illetve a *Microtetraspora* nemzetséggel.

A *T. fusca* és *T. alba* fajokat 1998-tól a *Thermobifida* nemzetségbe sorolva tárgyalják. A nemzetség harmadik tagját — hazánkia Kukolya József — új fajként az ezredfordulón izolálta *Thermobifida cellulolytica* néven. Különleges tulajdonságuk, hogy rendkívül hatékony lignincellulóz-bontó képességgel rendelkezik.

### MICROPOLYSPORACEAE



*Actinopolyspora halophila* (ATCC 27976). Nem fragmentálódó vegetatív micéliumból kiemelkedő légmicéliuma alakul spóraláncokká. Huszonöt százalékos konyhasó oldatból izolálták. 30 % felett a növekedése lassul, 10 % alatt viszont nem fejlődik. Optimális tenyésztési hőmérséklete 37 °C, de képes növekedni 10-43 °C között.

*Pseudonocardia thermophila* (ATCC 19285). 40-50 °C-on anaerob módon is képes növekedni. Hengeres spórákat képez. Alacsony hőmérsékleten a szubsztrátmicélium nem fragmentálódik.



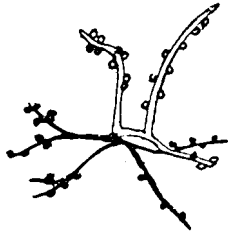
*Saccharomonospora viridis* (ATCC 15386). Rövid kocsányon ülő spórái főleg a légmicéliumon képződnek. Komposztból nyerhetők. Agar táptalajon bőrszerű telepet képez.

*Saccharopolyspora hirsuta* (ATCC 27875). Sejtfa lizozimmal könnyen emészthető. A telep idősebb részén a szubsztrátmicélium is fragmentálódik. 20-50 °C-on képes fejlődni. A légmicélium kötegekben áll, majd spórává fejlődik.

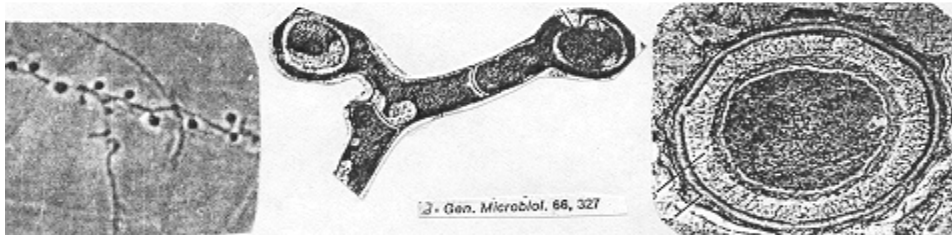
Talán helyesebb volna *Micropolyspora* genusba sorolni néhány olyan törzset, amelyeket előzőleg a *Nocardia*, vagy *Streptomyces* genusba írtak le, noha rendszertani helyük ma is bizonytalan. Ezek közül több törzs termel anza-láncú antibiotikumot (rifamicin). A *Streptomyces albovinaceus* (ATCC 12951) törzs például különbözik az ugyancsak *S. albovinaceus* (ATCC 15823) törzstől, valamint a *Nocardia mediterranea* (ATCC 13685), illetve *S. tolypophorus* fajoktól (Zentralblatt für Bakt. Mikrob. Hygiene 1 Abt. Suppl. 11:39-46, 1981). A törzsek gyógyszeripari jelentőségük miatt beható taxonómiai vizsgálatra nem kerülhettek!

### THERMOACTINOMYCES

Az idetartozó fajok spóráik hőstabilitásával hívják fel magukra a vizsgáló figyelmét. Az eddig megismert fonalas prokarioták spóráképzése a termőhelyen való elszaporodást segíti. Nem volt kimutatható a spórák kémiai ellenállóképessége és hőtüre. Amíg az Actinomycetes csoport hőérzékeny spórái mélyhűtve, illetve légszáraz állapotban homokkal keverve 15-20 °C-on évekig megőrzik csíráképességüket, a kipréselt cukornádon 55 °C-on növekedő *Thermoactinomyces sacchari* (ATCC 27375) 3 µm hosszú sporofórokon található, vastag falú endospórái a *Bacillus* endospóra hőstabilitását közelítve 90 °C hőmérsékleten is életben maradnak (J. Gen. Microbiol. 66:327, 1971). Egyébként a *Bacillus* és *Clostridium* törzsekkel való rokonságot a 16S rRNS vizsgálatok adatai is erősítik.



A *Thermoactinomyces vulgaris* (CSB 505.77) 30-60 °C-on növekedő szubsztrát- és légmicéliumán azonos külalakú, jelentős mennyiségű dipikolinsavat tartalmazó, hőrezisztens, kiszáradást tűrő spórák képződnek. Tirozint tartalmazó táptalajon oldható melanin pigmentet képeznek.



*T. sacchari* spóra fény- és elektronmikroszkópos képe

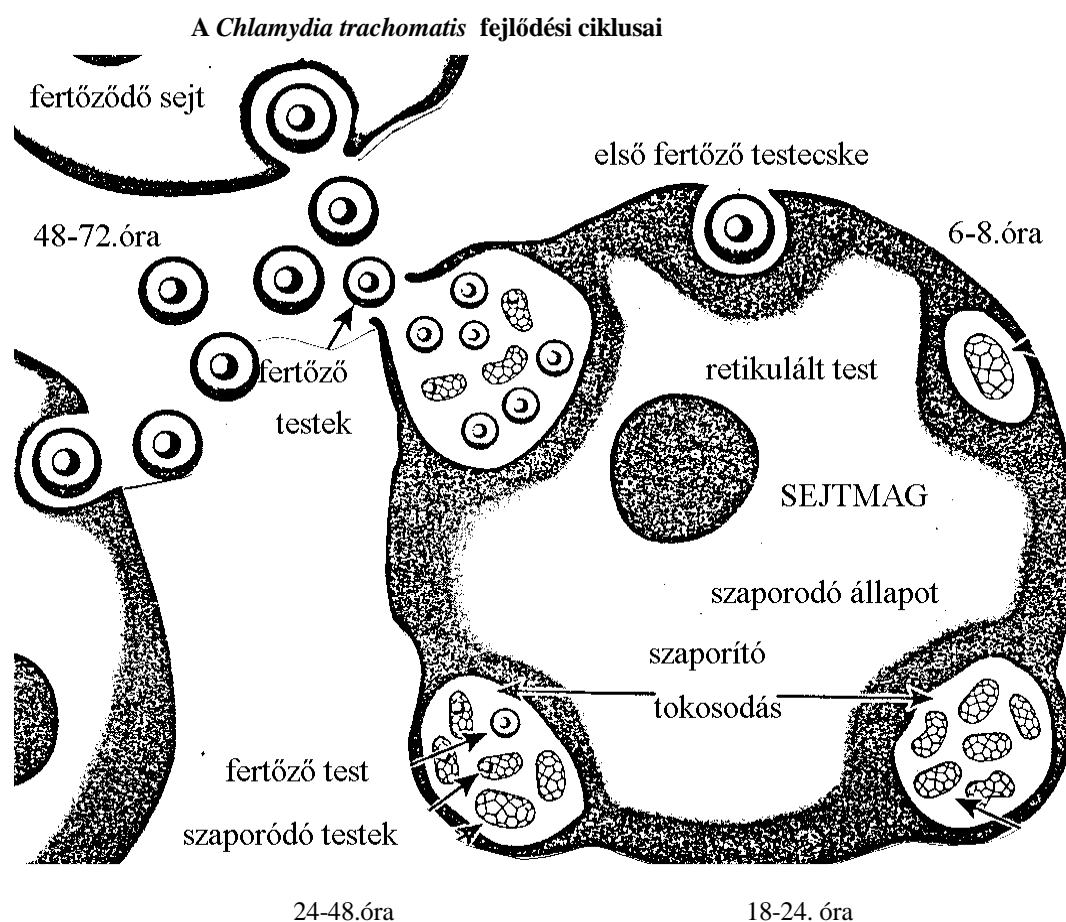
## SEJTÉLŐSKÖDŐK, RICKETTSIA-félék

A baktériumoknál kisebb, de még mikroszkóppal látható, Gram-negatív pálcák vagy kokkusok az élő eukariota sejtekben szaporodó, obligát sejtparaziták. Terjedésük szigorúan sejtnedvekhez kötött. Felfedezésükre éppen patogén tulajdonságuk vezetett. Egy apatogén parazita felfedezésének a valószínűsége ugyanis igen csekély. A csoport elnevezése az amerikai H. T. Ricketts katonáorvos munkájára emlékeztet.

A csoport legismertebb képviselője a fogolytáborok lakóit fenyegető kiütéses tífusz kórokozója, a *Rickettsia prowazekii*. Sejtfa muraminsavat tartalmaz. Emlőssejtben jól szaporodik. Az intermedier anyagcseréje hiányos, ezért önállóan életképtelen. Terjesztésében az ízeltlábúaknak, a ruhatetűnek nagy szerepe van. Leggazdaságosabb védelem volt a világháború alatt a rovarmentesítés (DDT). Vakcinálással a fertőzés megelőzhető. Antibiotikumokra érzékeny, de hatásos ellene a szulfonamid-készítmény is.

A csoport hírhedt képviselői a *Chlamydia* család fajai. Régebben Bedsonia néven emlegetett, nagyméretű vírusként számontartott sejtélősködők. Sejtfaik Gram-negatív festődése, riboszómájuk mérete, antibiotikum-érzékenységük, szaporodási módjuk egyértelműen a prokarioták között jelöli ki rendszertani helyüket. Piruvát és glutamát oxidációjára, ATP-szintézisre képtelen, tipikus energiaparazitáknak tekinthetők. Membránjuk feltűnően áteresztőképes az ATP, a NAD és a CoA számára. A fertőződés nemi aktus keretében is lehetséges, amely *Chlamydia* által okozott urethritishez vezet.

Legismertebb képviselőjük a trachoma kórokozója, a *Chlamydia trachomatis*, amely elsősorban kötőhártya-gyulladást okoz, később vaksághoz vezet. Afrika egyes területein népbetegségnek tekinthető. Terjedését higiénia rendszabályok betartásával lehet visszaszorítani.



A *Chlamydia psittaci* a háziállatokban megtelepedve fertőzési veszélyt jelent az ember számára. Gyakran előfordul a madárürülék porának belégzésével kialakult fertőzés.

## VIROPHYTA csoport. Precelluláris képződmények biológiája

A gondolkodó ember a mikroszkóppal sem látható természeti képződmények élettani hatásával, kórokozó tulajdonságaival jóval azelőtt találkozott, mintsem ezen lények vizsgálatára alkalmas eszközöket megalkotta volna a műszaki tudomány. A természet jelenségeit kritikusan figyelő, a tapasztalatok eredményeit logikus gondolkodással ötvöző, gyógyítási akaró orvosi hivatástudat több- kevesebb sikerrel felvette ezekkel az ismeretlen lényekkel a küzdelmet. A szervezet védekező mechanizmusát kihasználva, de arról mit sem tudva, az aktív immunizálást vezette be Edward Jenner az orvoslás gyakorlatába, amikor 1796-ban elsőként a tehénhimlővel vakcinálva (vacca~tehen) védelmet tudott biztosítani az akkor még ismeretlen himlő (Pox) vírus ellen.

Az élő sejtek obligát parazitáiként számontartott kórokozókat latin eredetű (virus~méreg) szóval különböztették meg a mikroszkóppal látható kórokozóktól. Jelenlétükre csak az általuk okozott biológiai károsodásból következtethettek. Kezdetben a szűrhető jelzöt is a főnév elé illesztették, utalva arra, hogy a mikrobiológiai laboratóriumokban azidőtájt használatban levő sterilizált szűrőkön áthaladt.

D. I. Ivanovszkij 1892-ben írt le szűrhető vírust a dohánynövény kórokozójaként. Megállapítását a dohánymozaik betegségről M. Beijerinck 1898-ban megerősítette. Végül a vírust kristályos formában W. M. Stanley izolálta 1935-ben. Löffler és Frosch 1898-ban mutatta ki az első emlősvírust a száj és körömfájás kórokozójaként.

A tumorvírusok első képviselőjét, a csirke-leukózis kórokozójaként Ellerman és Bang írta le 1908-ban. Rous pedig korát megelőzve 1911-ben a vírus okozta Rous-szarkóma ismertetésével írta fel nevét a Nobel-díjra érdemesek listájára; de Nobel-díjat csak 1966-ban kapott.

A virológiai kutatómunkát is mindenkor a gazdasági érdekek támogatták. Ezért elsősorban az egészségkárosító, vagy valamilyen gazdasági kárt okozó vírusok felfedezése és az ellenük alkalmazható módszerek kimunkálása hozott erkölcsi megbecsülést és anyagi hasznot. A gerincesek kórokozói és a növényi kártevők elleni küzdelem vitte előre a szaktudományt. Az állatvilág 97 %-át kitevő gerinctelenek rendszeres virológiai vizsgálata még késik.

A mikrobiológiai vizsgáló módszerek fejlettségével magyarázható, hogy az ismert vírusok 95 %-át (bakteriofág) prokariotákban fedezték fel. A bakteriális vírusok tanulmányozásával nyert kutatási eredmények szolgáltatták a kísérleti bizonyítékot a molekuláris biológia elméleti felismeréseinek általános érvényéhez és az utóbbi évtized géntechnológiai eredményeinek a hasznosításához. A biológiai történések molekuláris biológiai vizsgálata a kisméretű, viszonylag egyszerűbb szervezeteken olcsóbban és könnyebben megoldható.

A Virophyta csoportba tartozó, önálló anyagcserére és szaporodásra képtelen sejtélősködők, méret szerint a baktérium és a fehérje molekula mérete közé sorolhatók (10-300 nm).

Kétféle alakban találkozhatunk velük:

Vegetatív formában a VÍRUS eredetű nukleinsav (RNS vagy DNS) a gazdaszervezet enzimrendszerét igénybevéve, a szaporodási ciklus keretében nagy számú virion (fertőzőképes részecske) képződését irányítja. A vírus-nukleinsav olyan domináns gének láncolatának tekinthető, amely a gazdasejt génállományát elnyomva, a vírus parazita jellegét kódolja. A vírusos fertőzést nem követi szükségszerűen a súlyosan károsított gazdasejt pusztulása.

A fertőzőképes VIRION életjelenség nélküli szerves kristálynak tekinthető, amelyben az új virion felépítéséhez szükséges genetikai információt tartalmazó nukleinsavat fehérjetok veszi körül. Sok esetben egy második, főleg fehérjét tartalmazó burok (köpeny) fokozza a virion védelmét. Néhány esetben a virion a vegetatív formába való átmenethez szükséges enzimkristályt is tartalmazza.

Annak érdekében, hogy fogalmat alkothassunk a természet változatosságáról célszerű néhány jól ismert, a környezetünkben velünk együtt élő, sok esetben kórokozó vírussal megismerkedni. Úgy vélem, hogy hasznos az általános jellegeket a megismert valóság jelenségeivel kiegészíteni.

Kezdetől fogva fontos kérdés volt a vírusok tiszta tenyészetben folyó tömegtermelésének a megoldása. Az minden szakember előtt nyilvánvaló volt, hogy a kórokozó vírusok tömegtenyésztésének kimunkálása az ellenük folyó közdelemben alapvető jelentőséget nyer. Nagyfokú gazdaspecifitásuk miatt a legelőnyösebb a saját gazdán való tenyésztés. Az emlősvírus sok esetben jól tenyészthető a csirkeembrión. Más esetben emlősszövet-tenyészetek kerülnek tenyésztési közegként felhasználásra.

A vírusok rendszerezése szempontjából jelentős dátum 1953. Ez időtől a *Chlamydia* csoport tagjai - az addig nagy molekulájú vírusként számon tartott paraziták - a baktériumok közé kerültek. Ezzel felfelé a prokarioták és a vírusok között addig elmosódott különbség határozottá, egyértelművé vált. Lefelé azonban a határ még ma is bizonytalan. A káros élettani jelenségeket előidéző legkisebb kórokozók, a viroidok, mindösszesen 250-400 bázis méretű, fehérjeburok nélküli egyszálú, gyűrűs szerkezetű RNS-molekulák. Ezek a növényi kórokozók a legkisebb fehérjeburokkal rendelkező RNS-vírusoknál alig kisebbek. A gazdaszervezetbe kerülve a sejtmagban az RNS-polimeráz II segítségével nagy tömegben képződnek és ismert növénykórtani jelenségeket okoznak. Hasonlóan elmosódott a határ a burokkal rendelkező, kettős-spirál szerkezetű temperált-fágok és a különböző, burok nélkül előforduló plazmidok esetében. Mindkettő képes a bakteriális kromoszómába integrálódni, de önálló gyűrűs alakban

is szaporodóképesek. Ezeket a gyűrűs szerkezetű, átmenetileg a baktérium kromoszómájába épülő, de attól függetlenül is kettőződő képződményeket Jakob episzómának nevezte el.

A Nobel-díjas Enders alapvető felfedezései (Polio-vírus tenyésztése), a vírusok laboratóriumi tenyésztési technológiájának a kimunkálása, a laboratóriumi eszközök fejlettsége és az elméleti ismeretek gyarapodása az ötvenes években lehetővé tette világszerte a víruskutatás felgyorsítását. Ennek következményeként a 60-as évek közepére már elegendő adat gyűlt össze a különböző élettani változásokat okozó, baktériumszűrőkön áthaladó és szigorúan meghatározott körülmények között reprodukcióra képes részecskék egységes rendszertani leírására. Ezt az igényt kielégítendő a Mikrobiológiai Társaságok Nemzetközi Szövetsége (IUMS) 1966-ban egy nemzetközi szervezetet (International Committee for Taxonomy of Viruses) az ICTV-t hívta életre az egységes nevezéktan megalkotása céljából.

**Az ICTV 1984-ben kiadott elvei szerint felállított vírusrendszer**

	Genom tok lepel	Gerincesek	Gerinctelenek	Növények	Prokarioták
	2xDNS + -	Iridoviridae  Adenoviridae Papovaviridae	Iridoviridae	Caulimovirus (karfiol)	Myoviridae (P2) Styloviridae ( $\lambda$ -fág) Podoviridae (T7-fág) Tectiviridae Corticoviridae
	2xRNS + -	Reoviridae	Reoviridae	Reoviridae (tumor)	
	1xDNS + -	Parvoviridae	Parvoviridae	Geminivirus (kukorica)	Inoviridae Microviridae( $\phi$ X174)
	1xRNS + -	Caliciviridae	Nodaviridae	Mozaik vírusok Alfalfa Tobamovirus  (dohánymozaik)  Potexvirus  (burgonya-X)  Potyvirus  (burgonya-Y)  Hordeivirus  (árpamozaik)  Cucumovirus  (uborkamozaik)	Leviviridae (R-17) (F2)
	2xDNS + +	Poxviridae Herpesviridae	Poxviridae Baculoviridae		
	1xDNS + +				Plasmaviridae MV-L2
	2xRNS + +				Cystoviridae ( $\phi$ -6)
	1xRNS + +	Rhabdoviridae Retroviridae (Rous sarcoma) Bunyaviridae Arenaviridae Togaviridae Coronaviridae	Rhabdoviridae    Togaviridae	Rhabdoviridae (saláta) (paradicsom)	

Az ICTV 1984-ben a gazdaszervezetek szerint négy csoportba sorolva 61 családot tartott nyilván. A családokba sorolt fajok száma széles határok között változik. A gerincesekben előforduló Coronaviridae család 12

faja ismert. Ezzel szemben a Bunyaviridae család több mint 120 faja került eddig leírásra. A fágok közül a Cystoviridae család egyetlen faja ismert, viszont a Siphoviridae családban már több mint 1200 fajt tartanak nyilván.

Az eddig megismert vírusok rendszerbe foglalása sem volt könnyű feladat. Nemcsak a vírusok nagymértékű változékonysága jelent problémát, de már a vírusfajfogalom értelmezése sem könnyű feladvány. Általában a virológusok közös megegyezéssel a faj fogalma alatt a különböző forrásból származó törzsek egy-egy olyan csoportját értik, amelyeknek stabil tulajdonságai, egyértelműen elkülönítik az egyik csoporttól a másikat.

A faj minden esetben a genus és a törzs között helyezkedik el; hivatalos álláspont azonban még nem alakult ki a faj és a variáns elkülönítésére. A vírusfajok elkülönítése egy-egy család specialistáira van bízva. Ez a feladat számukra sem könnyű, mivel az irodalmi adatok nem mindig érik el a megkívánható szakmai színvonalat. A leírt eredmények ellenőrzése pedig időt rabló tevékenység.

Évről-évre új fajok felfedezéséről olvashatunk. Az eddigi adatokból következtethetően évenként egy ismeretlen új humán patogén vírus leírása várható. A növényi kórokozók felfedezésének a valószínűsége ennél nagyobb, évenként 4-5 növény patogén vírus felfedezésével számolhatunk.

Az eddig ismert vírusokat a gazdaszervezet szerinti klasszikus csoportosításnak megfelelően bakteriális, növényi, valamint gerinces és gerinctelen állatok vírusaiként tárgyalhatjuk. Jelenleg alakulóban van a gombákban előforduló vírusok önálló csoportba sorolása. Az orvosi gyakorlatban az okozott kóros állapot szerint a rokoni kapcsolattól függetlenül tárgyalják őket. A májkárosító hepatitis-vírusok is (A, B, C...) rendszertanilag igen eltérő csoportokhoz tartoznak.

Minden csoporton belül megkülönböztetjük a csak fehérjetokkal (kapszid) rendelkező vírusoktól a fehérjetokkal, és ezen kívül található fehérjét is tartalmazó burokkal vagy köpennyel (peplon) körülvett vírusokat.

Az átörökítő anyag minősége szerint RNS- és DNS-vírusokról beszélünk. Ezekben belül elkülönítjük az egyetlen nukleinsav szállal rendelkezőktől a dupla szálú, kettős spirál szerkezetű örökítő anyagot tartalmazó szevezeteket.

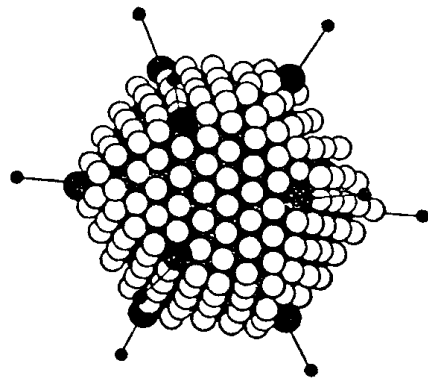
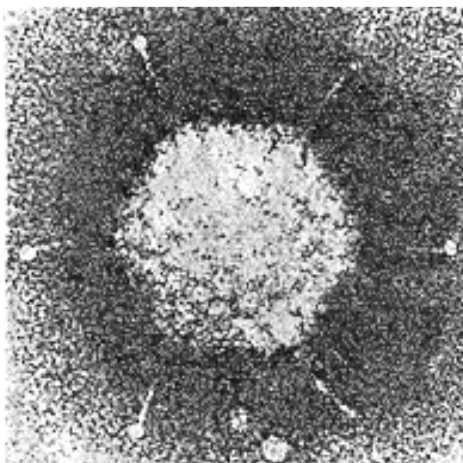
Ma a rokonsági kapcsolatokat már az örökítő anyag, az RNS vagy a DNS kémiai összetétele, géntérképe, sőt bázissorrendje alapján állapítják meg.

Fontos osztályozási szempont a morfológiai és méretbeli különbségek számbavétele. Az elektronmikroszkóp és a morfológiai vizsgáló módszerek fejlődése nagy mértékben fokozta az elkülöníthető családok számát. A szabályos poliédertől a fonalon át a pleomorf alakig szinte minden elképzelhető variációra akad példa.

## NÉHÁNY JELENTŐSEBB, ÁLTALÁNOSAN ISMERT VÍRUSCSALÁD ISMERTETÉSE

### ADENOVIRIDAE

Az *Adenovirus* fajok a madarakat fertőzik. A *Mastadenovirus* nembe sorolt vírusok ismert fajai az emlősök, főleg az ember kórokozói. Általában légúti fertőzéseket, kötőhártya gyulladást okoznak. Kétszálú lineáris DNS--genomja 75 nm méretű ikozahedrális fehérjetokban található. Gyakran társulnak a *Parvovirus* család fajjaival társfertőzésként.



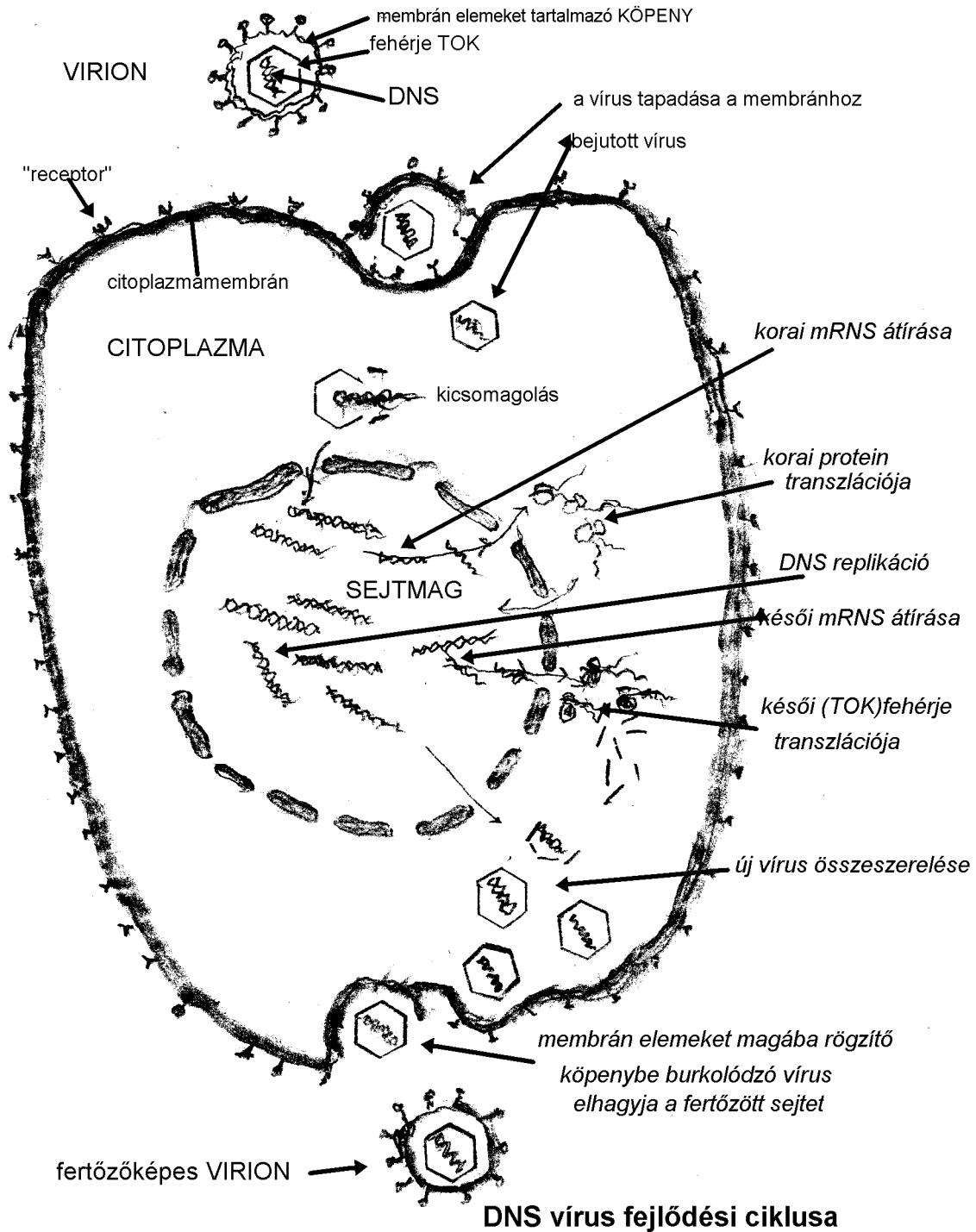
### HERPESVIRIDAE

A népes család sok típusa fordul elő mint kórokozó. Az emberben 7 típusuk ismert. A kétszálú lineáris DNS 200 nm méretű gömbalakú köpennyel burkolt ikozahedrális fehérjetokban helyezkedik el. Egy részük akut, illetve lappangó fertőzést okoz, másrésztük a nemi szervek megbetegedését okozza. A harmadik csoportjuk a varicella okozója. Végül ide sorolják a fertőző mononukleózis kórokozóját (EB-vírus) és a citomegalovírust.

## POXVIRIDAE

A család tagjai az állatvilág különböző fajaira specializálódva a himlő kórokozóiként fordulnak elő. Jenner 1798-ban elsőként alkalmazta sikerrel a tehénhimlő varnedvét (vakcinálás) védőoltásként. Az egyik legjobban ismert és vizsgált vírus (*Poxvirus variolae*), amely a világméretű összefogás eredményeként a nyolcvanas évekre gyakorlatilag a laboratóriumok törzsgyűjteményeibe szorult vissza. Ezért az utóbbi időben a humánhimlő ellen rendszeresített védőoltás kötelező voltát is felfüggesztették.

Kétszálú, lineáris DNS tartalmuk 350 x250 nm méretű, tömzsi pálcika alakú, köpennyel burkolt fehérjetokban helyezkedik el.



## PAPOVAVIRIDAE

A család neve a PApilloma, POlyoma és VAcuola képző vírus névből adódik. Szemölcsképződését, szövetburjánzást okoznak. Kettős szálú DNS körkromoszómájuk 50 nm méretű, ikozahedrális fehérjetokban található.

## PARVOVIRIDAE

A család tagjai emberen és az állatvilágban gyakran okoznak hasüregi gyulladást. Kisméretű (20nm) fehérjetokban, lineáris, egyszálú DNS hordozza az információt.

## PICORNAVIRIDAE

A család neve a pico+RNA összetétele. A család legismertebb fajai a gyermekbénulást okozó *Poliovirus*, továbbá a meningitis, a myocarditis és encephalitis kórokozói ismert fajok, valamint a száj- és körömfájást okozó *Aphthovirus* (régebben Rhinovirus). A fertőző RNS szálak 27 nm méretű, ikozahedrális fehérjetokban várják a gazdasejtet való találkozást.

## PARAMYXOVIRIDAE

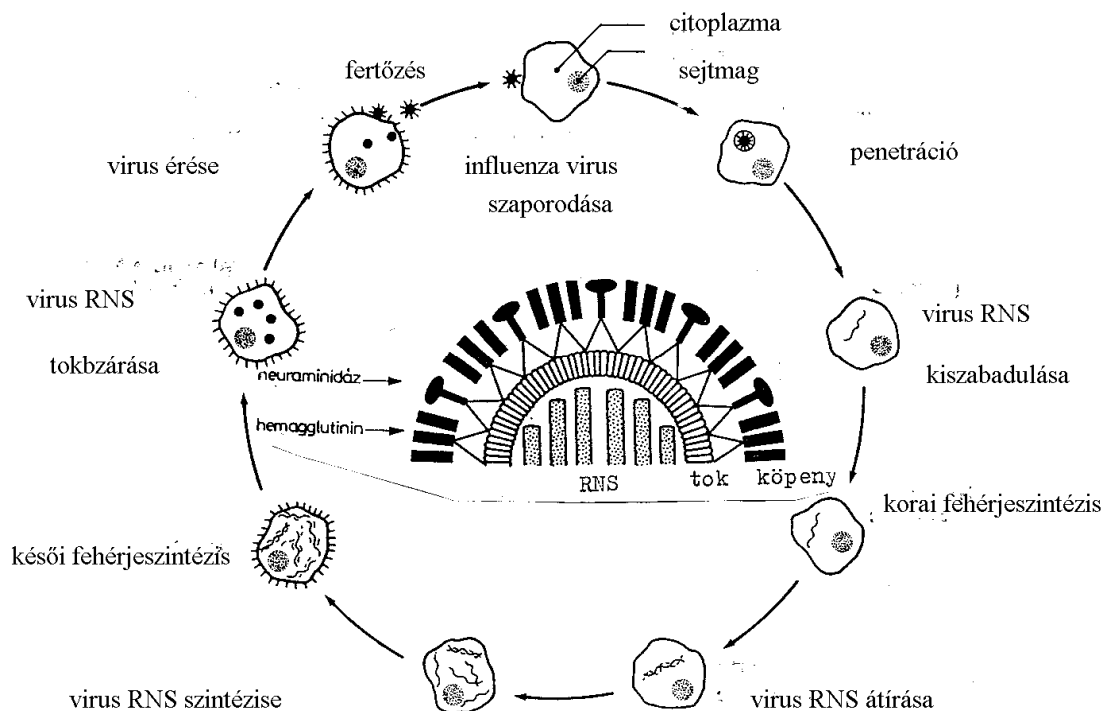
Legismertebb képviselője okozza a kanyarót, valamint a parotis gyulladást (mumps). A Tűzföld őslakóit a behurcolt kanyaró pusztította ki. A kórokozó mínusz RNS-szála 200 nm méretű, polimorf köpenyben levő fehérjetokban helyezkednek el.

## TOGAVIRIDAE

A család tagjai sok esetben ízeltlábúak közvetítésével okozzák a fertőzést. Ide tartozik az agyvelőgyulladást okozó vírus, valamint a rubeola kórokozója. A fertőző "+" RNS-szál 50 nm méretű gömbalakú köpenyben levő, ikozahedrális fehérjetokban található.

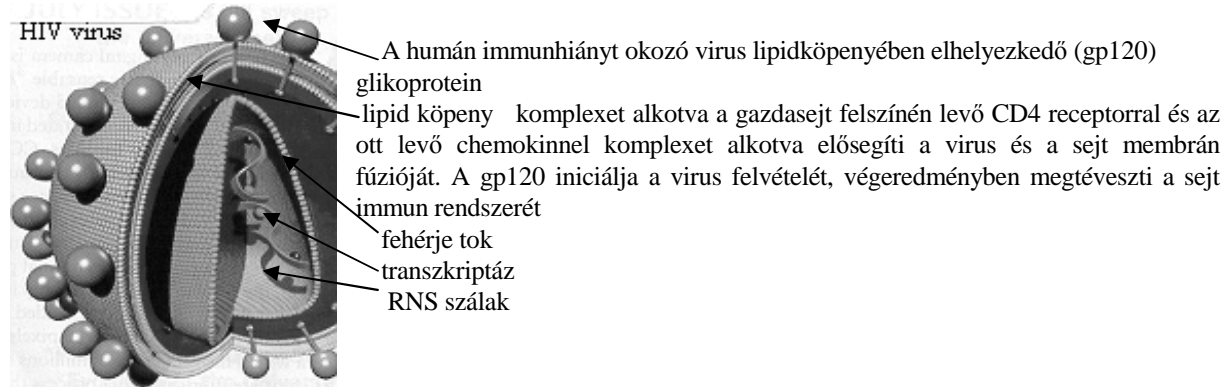
## ORTHOMYXOVIRIDAE

Jól ismert képviselői az influenza rekombinációra hajlamos kórokozói (Influenza-A, Influenza-B, Influenza-C vírus). A szegmentált 8 mínusz RNS-szálat tartalmazó fehérjetok nagyméretű (110 nm) gömbalakú, 300 neuraminidáz tartalmazó köpenyben helyezkedik el. A lipidburokból kinyúló, antigén tulajdonságú hemagglutinin fehérjék (1000 db glükoprotein) a vírus kötődését segítik elő a vörösvértestekhez.



## RETROVIRIDAE

A daganatos megbetegedések, a leukémia és a szarkóma kórokozóiént ismerték meg első képviselőiket. Ide sorolható az AIDS kórokozója. Gömb alakú (50 nm) köpenyben levő ikozahedrális fehérjetokban helyezkedik el a két fertőző RNS-szál.



## RHABDOVIRIDAE

Növény- és állatvilágban előforduló kórokozó. Hosszúak (70 x 170 nm) köpenyben levő fehérjetokban található a minusz RNS-szál.

## REOVIRIDAE

Növény- és állatvilágban előforduló, 65 nm méretű ikozahedrális fehérjetokban 10-13 szegmentált kettős szálú RNS-molekula tartalmazza a fertőző információt. A növényekben általában tumoros jellegű elváltozást okoz.

## POLIOVIRUS

A gyermekparalízis (poliomyelitis) kórokozója különös affinitással a gerincvelő elülső szarvának mozgató sejtjeihez kötődik. A kulturálatlan lakosságát sújtó járványos megbetegedés ma is élő áldozataival Európa-szerte találkozhatunk. A fertőzés általában tünetmentesen folyik le, kis százalékban azonban maradandó bénulást okoz.

A kórokozó a Picornavírusok Enterovirus alcsoportjába tartozik. Az ellene való védekezés előfeltétele volt a vírus laboratóriumi tenyésztetőségének kidolgozása. Ezt Bostonban a Gyermekklinika kutatóinak (John F. Enders, Thomas H. Weller, Frederick C. Robbins) csak 1949-ben sikerült megoldani, majomvese szövettényezetét használva. Felfedezésükért Nobel-díjban részesültek. A módszer bevezetése lehetőséget adott a nagy mennyiségben előállított, formaldehiddel előlt vírus oltóanyagként való felhasználására. Az eljárás kidolgozójáról (Jonas Salk) az oltóanyagot 1956-ban Salk-vakcinaként hozták forgalomba. A legyengített élő vírus alkalmazását Albert Sabin kutatómunkájának eredményeként 1961-ben vezették be (Sabin-cseppek). Ezzel a gyermekes szülők rettegése a fejlett ipari államokban megszűnt.

A Poliovírust a kis mérete és a kórokozóval szemben kialakított tökéletes védelem ideális kísérleti alannyá tette az alapkutatással foglalkozó virológusok, molekuláris biológusok számára. 1962-ben D. L. D. Caspar és Aaron Klug kimutatták, hogy a vírus 20 lapú ikozaéderhez hasonló tokját (kapszid) 60 fehérjemolekula alkotja. A tokfehérjét egyetlen gén kódolja. Az erről készült fehérjemásolatokat a gazdaszervezet enzimmészletében található peptidáz három, kémiaiilag különböző fehérjére hasítja. Az enzimes hasítás után kialakuló szekunder szerkezet oldalláncai különleges asszociátumok kialakulását segítik elő. Az így létrejövő pentamerek közül 12 alkotja a Poliovírus fehérjetokját. Ennek az asszociátumnak a létrejöttét megelőzi az egyik alegység további hasadása, amely folyamatot a vírus örökítő anyaga, az RNS-lánc segíti elő. Az így lehasadó rövid peptid a fehérjetok belső oldalán, az örökítő anyag körül helyezkedik el, hozzájárulva ezzel a vírus szerkezetének a stabilizálásához.

A vírus külső felületén nagy számban találunk olyan peptid szerkezetet, ami antigénként szerepel. Ez az antigénként hely sok esetben a két szomszédos molekula oldalláncainak a kapcsolódásából alakul ki. Eddig háromféle kötőhelyet azonosítottak, sőt ezek elhelyezkedését is meghatározták, szinte feltérképezve a fehérjeköpeny külső felületét.

Az RNS-szál mutációja, már egyetlen aminosav kicserélődése is az antigén szerkezet átrendeződését okozhatja. Ez a kísérleti adat felhívja a figyelmet a monoklonális ellenanyagok terápiás alkalmazásában rejlő veszélyre. Amíg az előlt vírusra kialakított, a vírus valamennyi antigén-kötőhelyére specifikus, poliklonális ellenanyag az esetleg megjelenő mutáns ellen is hatásos, addig az egyetlen kötőhelyre specifikus monoklonális ellenanyag adott esetben a vírus örökítő anyagát befolyásoló egyetlen pontmutáció eredményeként hatástalanná válhat.

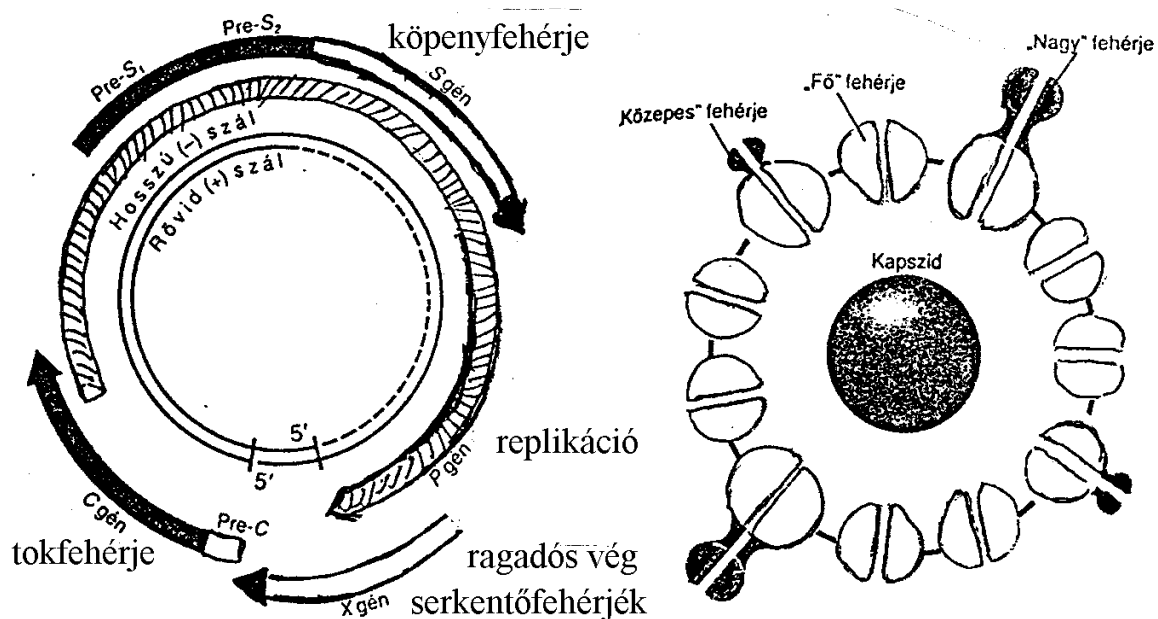
## HEPATITIS B VÍRUS

A súlyos egészségügyi problémákat okozó Hepatitis-B vírus (HBV) patogén tulajdonságai a megtámadott szervezet ellenálló képességének függvényében különböző tüneteket okozhatnak. A HBV elleni hatásos küzdelmet hátráltatta a vírus elszaporítására alkalmas laboratóriumi technológia hiánya.

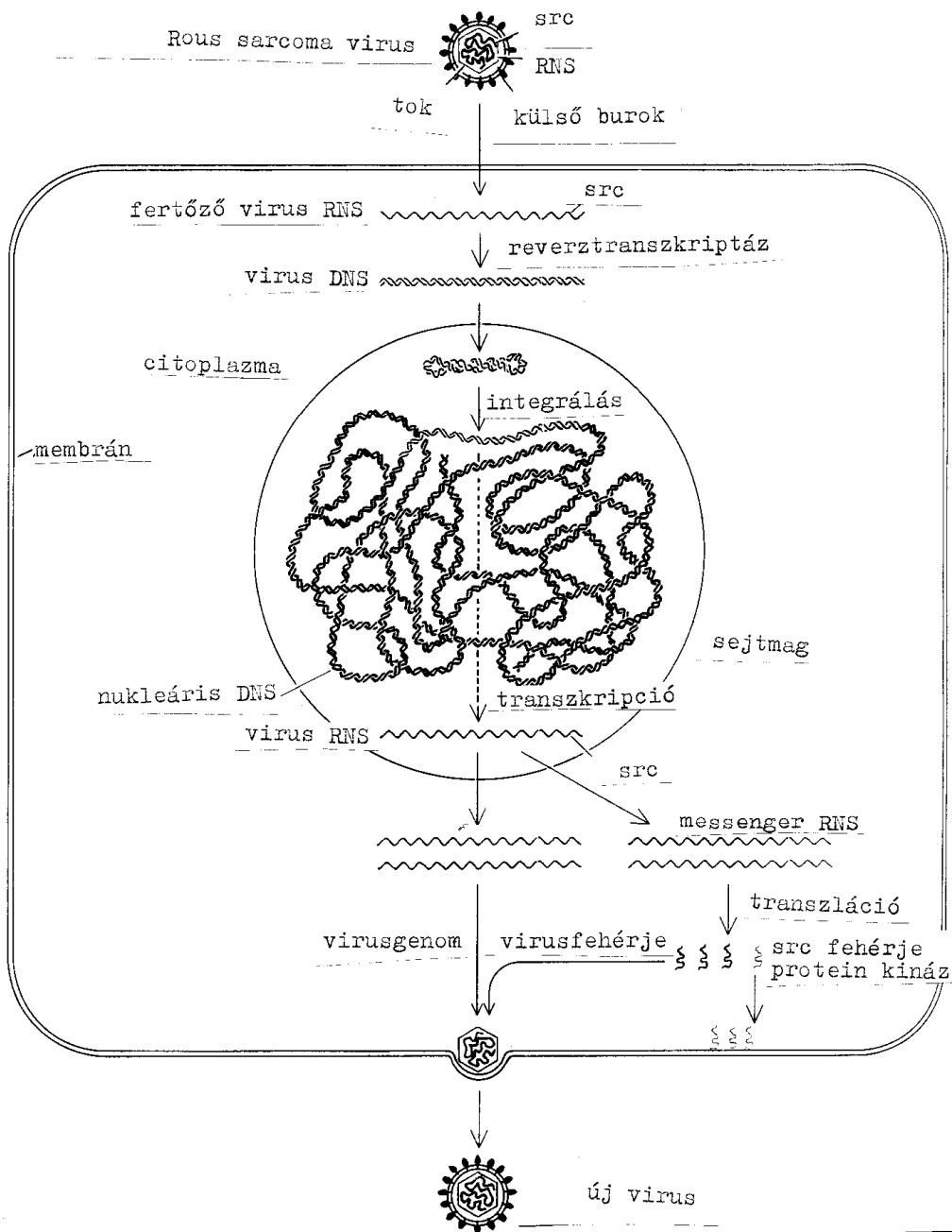
A fertőzödést követően 2-6 hónapos lappangási idő után heveny májgyulladás jelentkezhet, amit végül a szervezet ellenálló képessége leküzd, és a fertőzött egyén tartósan tünetmentes marad. A memóriasejtek aktivitásának köszönhetően az ellenanyag termelés egy újabb fertőződéssel szemben is védelmet jelent. Néha a fertőződés a máj nagyfokú, halálos kimenetelű szétesésével jár, mégpedig azért mert a szervezet védekező rendszerében szolgálatot teljesítő, túlbuzgó ölüsejtek a vírusantigént hordozó májsejteket megtámadva elpusztítják azokat. Gyakori a tünetmentes vírushordozás. Ezekben a személyekben a vírusantigén jelen van, ellenanyag azonban nem képződik. Ennek oka lehet a születés utáni korai fertőzés. A fertőzöttek száma széles határok között változik: USA és Kanada 1,2; Nyugat-Európa 4,5; Kelet-Európa 5,5; FÁK országok 20; Kína 110; India 75; Afrika 105; Dél-Amerika 6,4; Délkelet-Ázsia 39; Ausztrália 0,1/millió. Földrajzilag meghatározott területeken (Kína, Indonézia, Afrika déli fele) a krónikus fertőzöttség a lakosság 20 %-át is érintheti. Itt a fertőzött családok újszülöttjei csecsemő korukban találkoznak a vírussal. A csecsemő szervezetében az immunrendszer érzékenységének a kifejlődése idején a vírus hatására megjelenő antigént bemutató sejteket a szervezet védekező mechanizmusa még nem tartja testidegennek. Kialakul egy krónikus állapot, amikor gyakorlatilag tünetmentesen hordozza a beteg a vírust. A fertőzést a vérszérum és egyéb testnedvek, például a nyál is közvetítheti. A krónikus fertőzöttség következményeként akár 30-50 év lappangási idő után jelenkezhet a hepatocelluláris carcinoma tünetegyüttese, amit az alkoholizálás súlyosbít.

A HBV-virion kettős szálú DNS-kromoszómáját egy homogén összetételű belső tok veszi körül. A burok külső felületét alkotó köpeny háromféle, egymáshoz hasonló fehérjéből épül fel. A vírus genetikai információját feltűnően tömörítve egy mindössze 3200 bázisból álló, gyűrűs szerkezetű, kettős szálú DNS hordozza. A William S. Robinson által izolált örökítő anyag különlegessége, hogy a vírus-genomot alkotó kisméretű kromoszóma két DNS-szála nem azonos hosszúságú. A kisméretű genom *Escherichia coli*-ban könnyen klónozható volt és így a teljes szekvencia analízisést is elvégezték. A kromoszómán az információt átfedő gének hordozzák. A külső köpenyt alkotó három fehérje összetételét az S-gén tartalmazza. Az átírás három ponton indulhat, és annak megfelelően egyre hosszabb szakaszok kerülnek átírásra majd átfordításra. A három starthely jelentős mértékben különböző affinitása az RNS-polimerázhoz a képződő három fehérje mennyiségével arányos. Ezeknek a fehérjéknek a túlermelése okozza a kisméretű, nukleinsavat nem tartalmazó vírusrészecskék megjelenését a beteg vérszérumában.

A C-gén a belső fehérjetok építőelemeinek a képződését irányítja. Ez előtt található egy kisméretű hidrofób fehérjét kódoló szakasz, amely a vírus összeszerelésékor kap szerepet. Az X-gén egyrészt a kromoszóma ragadós végeit tartalmazza, de itt található olyan speciális szekvenciák, amelyek serkentik a többi gén kifejeződését. A P-gén, amely a vírus replikációt segítő enzimek struktúrgénjeit tartalmazza, a genom közel kétharmadára terjedve, a tok- és a burokfehérjék génjeit is átfedi. A HBV a szervezet más sejtjeiben (vese, lép, szív, hasnyálmirigy, csontvelő) is megtelepedhet, mégis a vírus szaporodása szempontjából különösen előnyös a májsejtekben folyó intenzív RNS-szintézis. A vírus fejlődési ciklusát gyorsítja a szteroid vegyületek jelenléte. A májsejtekben folyó szterinszintézis ugyancsak kedvező körülményt nyújt a vírus számára.



A HBV genetikai állományának a megkettőződése egy különleges reverz transzkriptáz működését igényli. A vírionban a kettős szálú DNS egyik fonala jelentősen rövidebb a komplementer szálnál. Ezt a féligkész vírusgenomot a májsejtben működő DNS-polimeráz kiegészíti. Így egy teljesen ép kettős szálú vírus-DNS kerül a májsejt magjába, ahol az ott levő RNS-polimeráz a kromozómán levő indító pontokról nagy számban készíti a mRNS-kópiákat. Többek között a teljes genom méretét (3200 bázis) meghaladó, bizonyos szekvenciákat ismétlő, 3500 bázist tartalmazó RNS-szál is készül. Ez a ribonukleinsav a vírus-DNS képződéséhez szolgál átírandó mintául. Ezt az átírást RNS-ről DNS-re a P-géneen kódolt különleges reverz transzkriptáz végzi. A minusz szál elkészülte után a mintául szolgáló RNS-szál szétesik, a májsejt saját polimeráza pedig megkezdi a komplementer DNS-szál elkészítését. Az esetek egy részében a második szál nem készül el teljesen. A készülő genom körül kialakuló tok és burok a májsejtben képződő nukleotidok távoltartásával akadályozza a polimeráz feladatának végzésében. Végül is a vírionban általában a félig replikálódott genom található. A tok nélküli teljes genom visszakerülve a sejtmagba egy újabb replikációs ciklust indít el. A vírusgenom X-génjének területén található ragadós vég lehetőséget teremt a májsejt genomjába való beépülésre, amely a hosszú lappangási idő magyarázatát adhatja. Az X-gén kifejeződést serkentő szekvenciái pedig szerepet kaphatnak bizonyos idült gyulladási folyamatokat kísérő regenerációs sejtosztódás befolyásolásában.



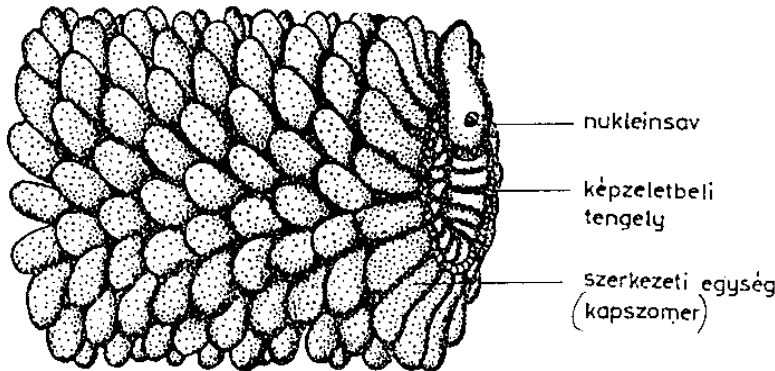
### **ROUS SARCOMA VIRUS,** a daganatkeltő RNS-vírus biológiája

A géntechnológiai munkákban jelentős szerepet nyert reverz transzkriptáz hordozójaként célszerű megismerkedni az állati vírusok közül a csirke-szarkómát okozó retrovírussal. (Peyton Rous 1910-ben észlelte, hogy a csirke-szarkóma sejtmertes kivonatával új szarkóma indukálható. 1966-ban 85 éves korában részesült Nobel-díjban.) Ez a vírus egyszálú RNS-fonalat tartalmaz örökítő anyagként, amit egy fehérjetok és egy fehérjeburok véd. A vírus-RNS egy része olyan proteinkináz gént (src) tartalmaz, amelyről képződő enzim a sejtmembrán belső oldalához tapadva, bizonyos fehérjéket foszforilezve elindítja a rákos folyamatot. Ez a gén klónozva és állati fibroblast kromoszómájába épülve "onkogénként" indítja a daganatképzést.

Az eukariota sejtbe lépő vírus saját reverz transzkriptáza segítségével a gazdaszervezet építőanyag készletéből felépíti a fertőző RNS-fonal kettős szálú DNS-komplementerjét. Az így létrejövő DNS-szakasz a gazdaszervezet kromoszómájába integrálódva a megtámadott sejtben működni kezd. A gazdaszervezet készleteiből az RNS-polimeráz segítségével megindul a fertőző vírus-RNS képződése. Ez tartalmazza az onkogénként működő src-szekvenciát is. A vírus-RNS messenger RNS-ként a tokot és a köpenyt alkotó fehérjemolekuláknak és a reverz transzkriptáznak a szintézisét irányítja. Ez utóbbi enzim felfedezése döntötte meg az egyirányú információáramlásnak a (DNS-ről RNS irányában) dogmáját. Az építőelemekből felépült vírus a citoplazmamembrán bizonyos építőelemeit felhasználva távozik a megtámadott sejtből.

## A NÖVÉNYVILÁGOT FERTŐZŐ VÍRUSOK

A növényi vírusok világszerte megtalálhatók. Szinte alig találunk vírusmentes növényt. Ennek az az oka, hogy szemben az állati vírusokkal a növényi vírusfertőzés nem pusztítja el a gazdanövényt, csupán csökkenti a növekedését, rontja a termék (dohány, paradicsom, burgonya, szőlő, cukorrépa, stb.) piaci értékét. Egyes dísznövényeknél még előnyt is jelent a vírus jelenléte. Az utóbbi évtizedben a növénynevelők világszerte a vírusmentesítéssel, illetve a vírusfertőzésnek ellenálló növény kitenyésztésével foglalkoznak. Jelenleg a vírusmentes sejtvonalból, kallusz *καλλος* tenyészetből nyerhetők vírusmentes növények. A vírusfertőzésnek ellenálló variánsok remélhetőleg géntechnológiai úton állíthatók elő. Az első tudományos szakszerűséggel leírt vírus éppen növényi kórokozó volt, a dohánymozaik vírus (Ivanovszkij 1892), amit az elmúlt közel száz esztendő alatt igen részletesen vizsgáltak. A 300 nm hosszú és 18 nm átmérőjű pálcika alakú RNS-vírus örökítő anyaga 6500 nukleotidot tartalmaz. A vírus tömege 40 mDa. A 2 mDa tömegű helikális RNS egyszerű kémiai beavatkozással elválasztható a fehérjekapszidtól. A kapszid 2000-2200 azonos alegységből, kapszomerekből épül fel.



A kapszomerek az átörökítő RNS-genom jelenlétében spontán kapsziddá rendeződnek. Egy-egy 158 aminosavból álló (10 kDa tömegű peptid) kapszomer az RNS-szál három nukleotidjához kapcsolódik, amiből következik, hogy az RNS helikális szerkezetének megfelelően a kapszomerek is csigavonalban helyezkednek el. A vírussal fertőzött növény levelein mozaikszerű foltosodás figyelhető meg, ami a később bekövetkező elhalás előjele.

A burgonyát többféle vírus is károsítja. Az Y-vírus 720-730 nm hosszú, hajlékony pálcá, amelyet a levéltetvek terjesztenek. Az X-vírus az előbbinél rövidebb 480-580 nm hosszú, hajlékony pálcá, amely a növény gyűrűs foltosságát okozza. Az elvékonyodott gumók képződését a vírussal is kisebb viroid okozza. Ezeket húsz évvel ezelőtt fedezte fel Diener és Raymer (1967). Ezek a viroidok végeredményben kapszid nélküli csupasz RNS-molekulák, amelyek bázispárok kialakítására alkalmas kémiai felépítésük miatt meglehetősen stabilak. Méretükből adódóan csupán kisméretű, 70-80 aminosavból felépült fehérjemolekulát kódolhatnak.

### MYCOVIRUS

1962-ben jelent meg az első közlés a gombák vírusfertőzöttségéről (Nature 196:962-65, 1962). Az *Agaricus bisporus* tenyészetében fedezték fel. A *Penicillium stolonifer* ATCC 14586 törzs tenyészetében kettős szálú RNS-vírust mutattak ki (Nature 215:649-650, 1967). A *Penicillium chrysogenum* tenyészetében 1972-ben találták meg (Virology 47:604-609, 1972) a vírust. A fehér steril micélium tömegén néhány napi növekedés után jelennek meg a vírusra utaló foltok. A táptalaj laktóztartalmának növelésével a foltok megjelenése siettethető. A vad *Penicillium* törzsek között rezisztens egyedeket is lehet találni. Bozarth szerint a gombák 10-15 %-a vírushordozó. Sok faj látens fertőzőként tartalmazza a vírust, vírushordozó. Egy-egy gombatelep akár 100 ezer vírusrészecskét is tartalmazhat. A vírus a gomba szárazanyagtartalmának 0,5 %-át éri el. A növekedési fázisban a vírus 20 %-a képződik. A stacioner fázisban a vírus szaporodása fokozott. Bizonyos szekunder metabolitok képződésével összekötik egyesek a mycovírus megjelenését. A táptalaj laktóztartalmának a növelése a vírusképződést fokozza. A vírusfertőzés nem állítja le a gazdaszervezet DNS-szintézisét, csupán bizonyos kompetíció figyelhető meg. Az élesztőknél a vírusos fertőzés a killer-toxin képződését fokozza. A killer-toxint termelő törzs rezisztenssé válik a saját vírus hatására képződő anyaggal szemben. Az érzékeny törzset viszont kiirtja.

## FERTŐZÉST KÖZVETÍTŐ KÓROKOZÓ FEHÉRJE

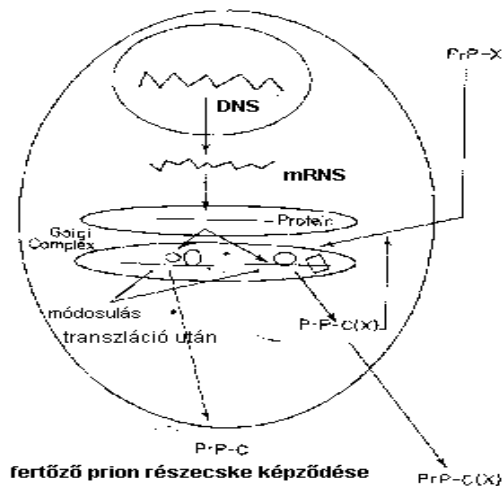
A magasabb rendű élőlényekben előforduló, főleg a központi idegrendszerben, szemben jelentkező megbetegedések egy részénél nemzetközi összefogással sem sikerült virális kórokozót izolálni. Jellegzetes tünetként az agyvelő szivacsos átalakulása a fertőzött egyed pusztulását okozta. A vizsgálati technika fejlődésével fertőző természetű glükozilált fehérjék jelenlétét igazolták. Összetett szóalkotással prionok (proteinaceous infectious particle: PrP) csoportjába sorolva tárgyalja a szakirodalom ezeket az alacsony moltömegű, fonalas szerkezetű, megváltozott konformációjú fehérjéket, amelyek egy rövidebb glükolipid résszel kapcsolódnak a fertőzött idegsejt citoplazma membránjához. Az adott biokémiai körülmények között kialakuló különböző konformáció — amely további fehérjék konformáció változását katalizálja — eltérő fenotípust jelent Ionizáló sugárzás, magas hőmérséklet, proteolitikus hatás, detergens nem károsítja. Hipoklorittal (HIPO) kezelve viszont elroncsolódik.

Hörcsög surló-kórt (scrapie) okozó szénhidrátartalmú kórokozó fehérjét először Stanley B. Prusiner izolált a nyolcvanas években (1997-ben kapott Nobel-díjat). A fonalas szerkezetű fertőző fehérjék ellen nyulakban immunsavó termelhető. Jelenlétük a fertőzött szövetekben immunfluoreszcenciás módszerrel kimutatható. A méhlepény adott esetben különösen sok fertőzőképes prion tartalmaz. A juhok, kecskék surlókórja több mint 250 éve ismert. Hazánkban is előfordul. A PrP-Sc (scrapie) C terminális doménje  $\beta$ -lemezes szerkezetet vesz fel és spontán aggregálódási folyamatot indít el. Ez katalizálja a PrP-C—PrP-Sc átalakulást A PrP-C celluláris prion fehérje olyan membrán glükoprotein amelynek N terminálisa glükozil-foszfatidil-inozithoz kötődik. A C terminálisa  $\alpha$ -helix konformációt vesz fel. Két aszparagin oldallánca szénhidráthoz kapcsolódik.,—A tehenek fertőző szivacsos agykárosodása évtizedek óta (BSE bovin spongiform encephalopathia) ismert (Wkly Epidemiol Rec. 71:83-85, 1966). Angliában 1988-94 között több mint 130.000 esetet észleltek.



Surló-kórban szenvedő juh

Feltételezik, hogy fertőzött juhokból készült húsliszt terjesztette a fertőzést. A járvány 1992-ben tetőzött, több mint 36 ezer állat pusztulását okozva. Az átlagos lappangási idő 4-5 év (szélső értékben 2-18 év). Közvetlenül az agyba oltva a lappangási idő rövidíthető. A közvetlen cerebrális fertőzéssel összehasonlítva; az enterális fertőzés  $10^5$  x nagyobb koncentrációban jelenlevő prion jelenlétében következik be. Prionok által okozott kórformák megjelenését igazolták az állatkerti ragadozókon és a házi macskán, valamint a majmokon. Az utóbbi időben különös izgalmat keltettek a faji határ áttöréséről megjelent közlések.



fertőző prion részecske képződése

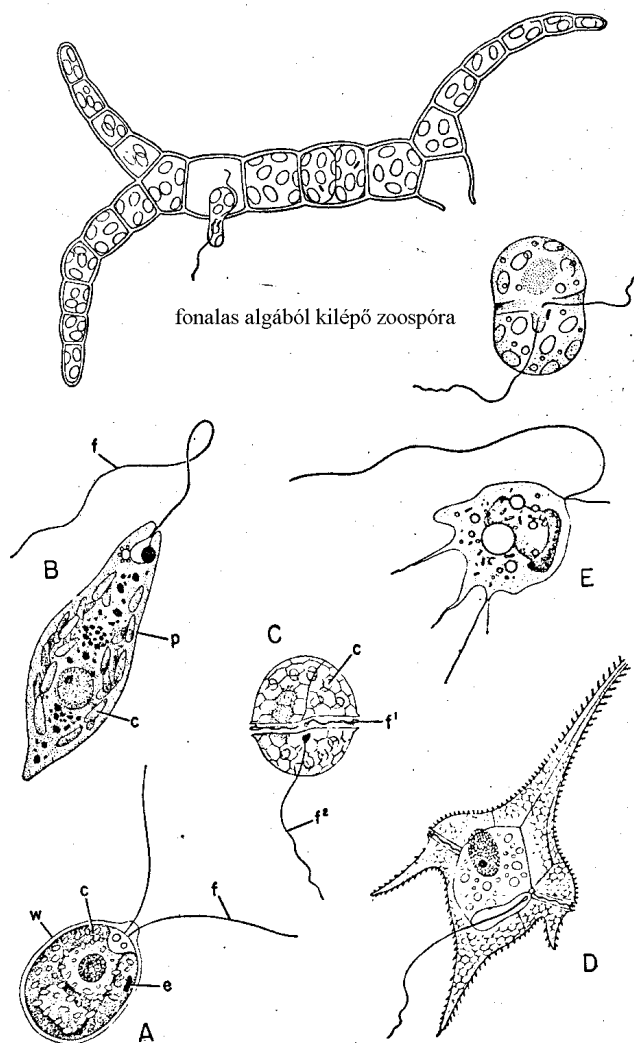
PrP-C természetes állapotban levő PrP glükoprotein, amelynek a struktúrgénje a sejtanyagban levő DNS-ben található.

PrP-C(X) fertőzőképes módosult glükoprotein bizonyították, hogy az embrionális élet korai szakaszában a természetes PrP génjét kitörölve, a felnőtté vált, úgynevezett "knock out" egerek elvesztik a fogékonyságukat a scrapie PrP-X -szel szemben. Ez esetben nem képződik az a fehérje, amelynek az infektív válságában közreműködhetnének. A fertőzőképes prion (Prp-X) hatására a transzláció után bekövetkező módosulás fertőzőképes PrP-Cxképződését segíti, amely kijutva a fertőzött sejtből más ép sejtet fertőzve hasonló folyamatot indít el. Állatkísérletek igazolják, hogy a prion fertőzés következményeinek felszámolására eredményesen használható a gén gyengítési (gene silencing) technika alkalmazása. A természetes PrP fehérje *de novo* képződését a gén módosított változata (gyengíti) akadályozza. Ha nem képződik PrP fehérje akkor nem jelenhet meg az infektív alak.

A Pápua-Új-Guinea őslakóit pusztító kuru nevű betegség a rituális kannibalizmus 1950-ben bekövetkezett betiltása után ma már csak szórványosan fordul elő. Az emberben előforduló, 1920-ban leírt Creutzfeldt-Jacob-szindróma feltételezett kórokozója 230 aminosavból álló fehérje. Az 1936-ban leírt Gertsmann-Sträussler-Scheinker szindróma kórokozója csupán néhány aminosavban különbözik az előbbtől. Iatrogén fertőzéskor az átvitel fertőzött sebészeti eszközökkel történhet. A molekuláris biológiai vizsgálati technika fejlődése segítette a probléma felderítését. Kiderült, hogy a fertőzőnek tekintett fehérje génje előfordul az egészséges szervezetben is. Ez a fehérje az idegsejtek membránjához kötve természetes kristályformában tölti be feladatát. A kórokozó fehérje csupán tér-szerkezetében különbözik ettől. Az egészséges szervezetbe jutó kórokozó fehérje hatására a *de novo* képződő PrP fehérje a kórokozó jelenlétében már diszulfid kötésekkel rögzített infektív alakban jelenik meg. A természetes PrP fehérjét a proteináz-K aminosavakra bontja, a fertőző formában kristályosodó PrP viszont ellenáll a proteázoknak. Egér kísérletekkel

## PROTOZOÁK

Befejezőként a mikrobiológia tárgyát körülíró meghatározás szerint idesorolható egysejtű lényekről, az eddig leírt több mint húszezer faj néhány jelentősebb képviselőjéről is röviden megemlékezünk. Tesszük ezt annak ellenére, hogy ezek többé-kevésbé említésre kerülnek a növénytan, illetve az állattan első fejezetében is. A mikrobiológia keretében való tárgyalásukat az is indokolja, hogy a környezetükben létező mikroorganizmusokat nemcsak táplálékforrásként hasznosítják, de a citoplazmájukban nagy számban élő mikroszervezetek esszenciális vitamintermelésükkel elősegítik a gazdaszervezet növekedését. Minden esetben találkozunk velük, ha valamilyen természetes forrásból, talajból, élő vizekből, szennyvízből, esetleg valamilyen magasabb rendű szervezet bélcsatornájából vagy testüregéből próbálunk mikroszervezeteket izolálni. Gyakorta észlelhető környezetátalakító szerepük. Nem egy közülük veszedelmes kórokozóként, magasabb rendű szervezetek élősködőjeként ismert.



fonalas algából kilépő zoospóra

A növényvilágból idesorolhatók a foto szintetizáló klorofitonok közül a kétostoros zöldalgák. Ismert képviselőik a cellulóz sejtfallal és klorofill-a, klorofill-b, xantofill és karotin színanyagot tartalmazó, kehely alakú kloroplasztal rendelkező *Chlamydomonas* fajok. Tartalék tápanyagként keményítőt halmoznak fel a sejten belül. A szexuális folyamatban két ostoros gamétából képződik a vékony fallal körülvelt ostoros zigóta. Ez meiózisos osztódással négy haploid sejtre válik szét. Aszexuális szaporodáskor egyetlen sejt többszöri mitózisos osztódással nyolc leánysejtre eshet szét. A *Chlamydomonas* törzsek nagy szaporodóképességük miatt az algatermelési kísérletek kedvelt alanyai. Ugyancsak népszerű az alapkutatót végző laboratóriumokban az autospóráképző *Chlorella* fajok használata.

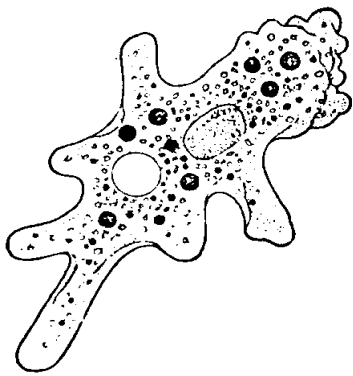
- A) *Chlamydomonas* (zöldalga) f, fagellum
- B) *Euglena* (euglenoid alga) c, kloroplaszt
- C) *Gymnodinium* w, sejtfal
- D) *Ceratium* (páncélos alga) p, sejthártya
- E) *Chloromonas* (amöboid alga) e, szemfolt

Természetes vizeinkben fordul elő az egyostorú, kettéhasadással szaporodó *Euglena* nemzetség valamelyik képviselője. Szintetecskéjükből hiányzik a xantofill. Szexuális szaporodásuk ismeretlen. Tartalék tápanyagként zsírt és egy különleges poliszacharidot, paramilánt halmoz fel. A cellulóz sejtfalon kívül egy elasztikus köpeny határolja őket.

Gyakran találkozhatunk a páncélos dinoflagelláták képviselőivel, a *Ceratium* fajokkal.

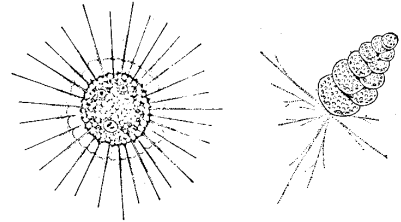
A dinoflagelláták (ősostorosok) közül a *Gymnodinium* a legismertebb. Két ostora egymástól eltérő elhelyezkedésű. Az egyik ostor a sejt egyik oldalán található, a másik viszont középtájon, szinte körülöleli a sejtet. Korong alakú kloroplasztja barna színű. Alakilag nagyon hasonlítanak hozzá a *Pyrrophyta* fonalas algák szaporító sejtjeiből kiszabaduló zoospórák.

A *Chrysophyta* ostoros, de amöboid tulajdonságokat is mutató foto szintetizáló *Chloromonas* fajokon kívül gyakran találkozhatunk a *Chlorarachinon* fajok citoplazmás eredetű fonalakkal rögzített, ostor nélküli, amöboid sejtekből összeálló nyálkás telepeivel. A *Chrysophyta* csoport legismertebb képviselői a szilikátvázat építő *Diatoma* fajok. Ezek a több száz méter vastag üledéket alkotó mikroszervezetek örlemény formájában (diatoma-föld) ipari alapanyagként régóta ismertek. Természetes vizeinkben gyakran találkozhatunk a barna színű *Pheophyta* és a vörös színű *Rhodophyta* többsejtes algák kiszabaduló zoospóráival. A kloroplasztiszaik zöld színét teljesen elfedi a barna színű fukoxantin. A vörös algák színét valójában a fikoeritrin és a fikocianin állítja be. A nem fotoszintetizáló protisták csak a kloroplaszt hiányában különböznek az eddig megismertektől. Az *Euglena* állati megfelelője az *Astasia*, a *Chlamydomonas* szintelen analógja a *Polytoma*. A botanikusok csupán kloroplasztjukat vesztett algáknak, a zoológusok viszont az állatvilág első képviselőinek tekintik őket.

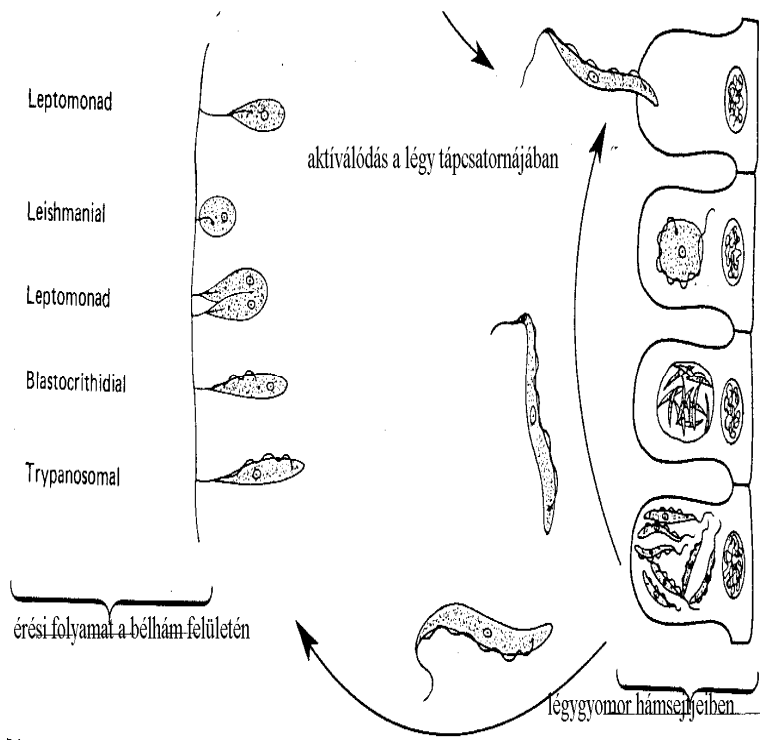


**Amoeba proteus rajza**

A *Sarcodina* osztályba sorolt *Amoeba proteus* ujszerű állábakkal amóbaszerű mozgással közlekedik a nedves felszínen. Új szervecskéje a lüktető vakuóla. Kisebb mikrobákkal táplálkozva, osztódással szaporodik, talajban, vizekben, mindenhol előfordul. Az emésztés és a kiválasztás morfológiailag nem különül el. Néhány fajuk a bélcsatorna lakója, mások viszont veszedelmes kórokozók. Trópuson, illetve mediterrán éghajlaton gyakran okoz kellemetlen bélfertőzést az *Entamoeba histolytica*. Jellegzetes tályogszerű képletben szaporodik a bélfalon vagy a bélhám sejtjeiben. Vegetatív anaerob alakja nem tartalmaz mitokondriumot. Trofozoitja a véráramon keresztül eljuthat a tüdőbe, májba, agyvelőbe, ahol tályogot okoz. **Foraminiferák rajza** (Metronidazol, chloroquin, clion használható gyógyszerként.) Valójában az immunrendszer előbb-utóbb felszámolja a fertőzést.



A csoport neves képviselői a tengervízben élő, kovasavvázat építő *Foraminiferák* és *Radiolariák*. Csodálatos szépségű építményeik nyílásain állábaikat kidughatják. A vázépítés tehát mozgáskéességüket nem szünteti meg teljesen.



A *Mastigiophora* osztályba sorolt egysejtűek között sok a parazita. A *Trypanosoma* nemcsak a végálló ostorral mozog, hanem a sejt hosszában futó membrán hullámzó mozgása is a helyváltoztatás célját szolgálja. A vérpályában hosszanti hasadással szaporodnak. Több kórokozó fajuk ismeretes Dél-Amerika és Afrika trópusi területein. A kórokozó leküzdése Koch és munkatársainak nevéhez kötődik. Az első tripanosómát azonban hazánkfa, az 1810-ben Kisbéren született - Párizsban dolgozó - Gruby Dávid orvos írta le. Terjesztésében ízeltlábúak vesznek részt. Az intracelluláris szaporodási ciklus a légy bélcsatorna hámseljtében megy végbe. Az utóérési folyamat viszont a bélfal felületén fejeződik be.

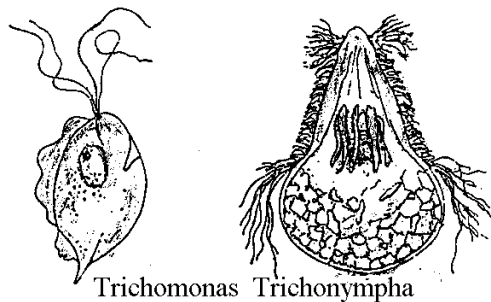
A *Trypanosoma gambiense* parazitát, az idegrendszert károsító (álomkór) kórokozót a *Glossina morsitans* (cece légy) terjeszti. A cece légy a nálunk is honos *Stomoxys calcitrans* szúrólégy

közeli rokona. (A Dél-Amerikában elterjedt *Trypanosoma cruzi* terjesztője poloska.)



**Glossina morsitans vérszívás előtt és után**

Bonyolultabb felépítésű az ugyancsak kórokozó *Trichomonas* és *Trichonympha*, amelyek az egész világon, így hazánkban is elterjedt kórokozók. A hazai fertőzöttség 20 %-ra tehető.

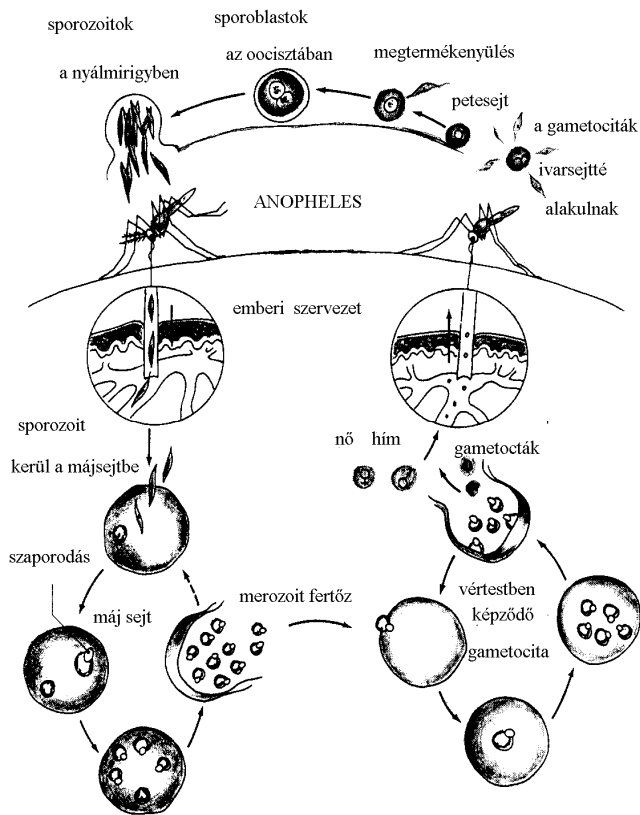


**Trichomonas Trichonympha**

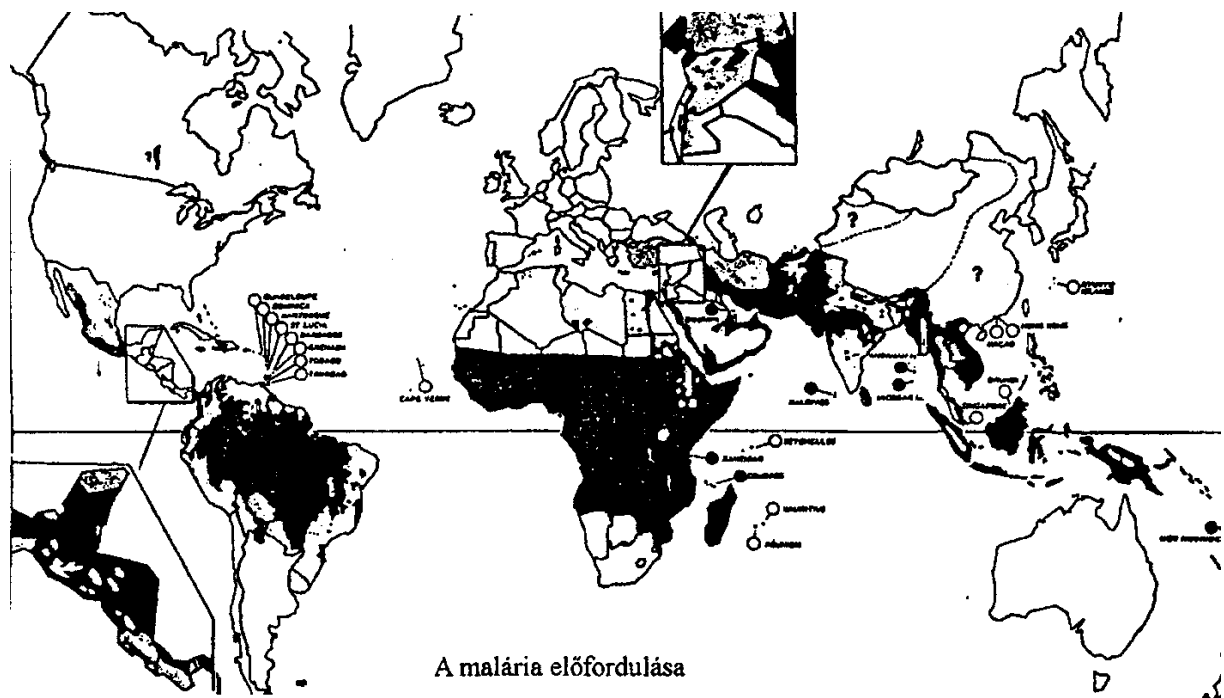
Az egyik legveszedelmesebb parazita a maláriát okozó sporozoa,

amelynek teljes életciklusa két gazdaszervezetet igényel, az *Anopheles* szúnyogot és az ember vérszövetét. Több veszedelmes fajuk ismert. Az emlős szervezet ellenanyagképzéssel nem képes ellenük védekezni. Megjegyzendő, hogy a helyi lakosoknál a halálozási arány elenyésző az utazókéval összevetve.

**Plasmodium vivax fejlődése az Anopheles bélcsatornájában és az emberi vérszövetben**

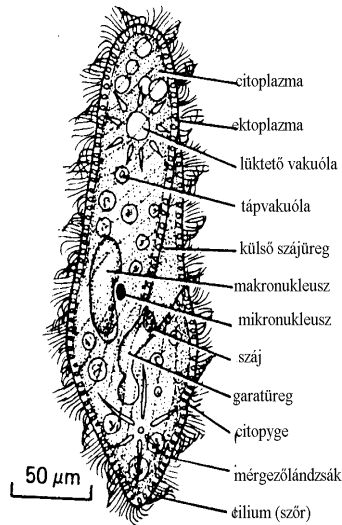


A *Plasmodium vivax* sporozoitja a nőstény szúnyog nyálmirigyének a váladékával kerül az emberi vérpályába, ahol először a májsejtet fertőzve sokmagvú átmeneti formán keresztül fertőzőképes merozoit tömeggé fejlődik, amely a vértesteket fertőzi. A vértestekben a trofozoitok aszekszuális szaporodása (merozoitok képződése) lázas folyamatot indukáló (pyrogen) anyagok képződésével jár, amely a vérplazmába kerülve okozza a visszatérő lázas periódust. A vértetek szétesésekor kiszabaduló merozoitok újabb véresejtet fertőzve 48 óránként sokasodnak. Egyesek a vértestekben hím, illetve női gametocitává alakulnak. Ezek fejlődése csak az *Anopheles* bélcsatornájában folytatódik. A gametociták érési folyamata, a petesejt és a spermatozoa képződésen keresztül vezet a megtermékenyítési folyamathoz. A zigóta ookinétaként a testüregbe kerül. Az oocisztában képződő nagyszámú sporoblasztból átalakuló, amöboid mozgással helyváltoztatásra képes sporozoitok az *Anopheles* nyálmirigyébe vándorolva várják a gazdaváltást, az új fejlődési ciklus kezdetét.



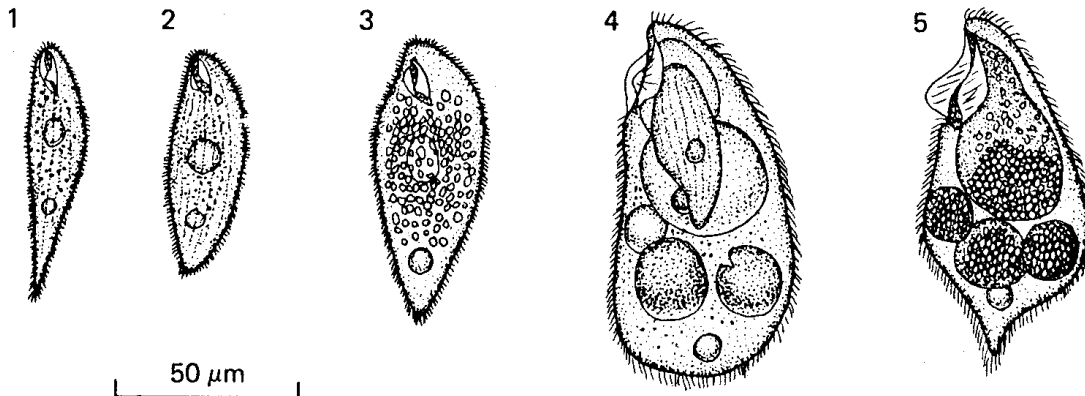
A malária előfordulása

### *Tetrahymena pyriformis* rajza



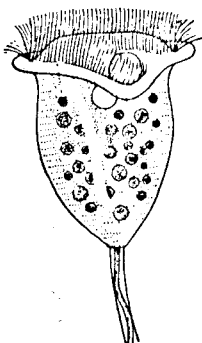
A protozoák legfejlettebb fajait a Ciliaták között találjuk. Két különböző méretű és funkciójú maggal rendelkeznek. Vegetatív osztódáskor mindkét mag osztódik. A kisebb mag diploid, a genetikai szabályozásban, a szexuális aktusban fontos szerepet tölt be. Hiányában csak vegetatív osztódásra képes a mikroszervezet. A nagyobb, poliploid makronukleusz az előbbinél 100-szor több DNS-t tartalmaz. A szexuális ciklus alatt szétesik, és csak a folyamat befejeződése után alakul újra a mikronukleusz irányításával.

Legjobban ismert fajuk az egysejtűek fejlődésének csúcán álló *Tetrahymena pyriformis*. Külső felületén sűrű, hajszerű bevonatot, mozgékonytató szolgáló csillókat találunk. A csillók között működnek a védelmet, illetve az áldozat bénítására szolgáló trichocysták. A csillók koordinált mozgását primitív idegrendszer irányítja. Testük egyik oldalán találjuk a szájnyílást, amelyen keresztül a környezetben található kisebb élőlényeket bekebelezik. A tápanyag emésztése vakuólumokban folyik. Az ellenkező oldalon található az emészthetetlen maradék eltávolítására szolgáló nyíladék. A sejt két ellentétes részén alternáltan működő pulzáló vakuólák láthatók. Méretük és külalakjuk erősen függ a tápláléktól és a tenyésztés körülményeitől. Az ábra bemutatja a *Tetrahymena vorax* tápközegtől függő morfológiai változását.



1. Élő baktériumot fogyasztó *Tetrahymena vorax* alakja és mérete.
2. Laboratóriumban húsleves táptalajon tenyésztve.
3. Elpusztult ciliátákon tenyésztve.
4. Élő ciliátákat (*Colpidium sp.*) fogyasztó *T. vorax*.
5. Élő élesztősejten tenyésztett *T. vorax*.

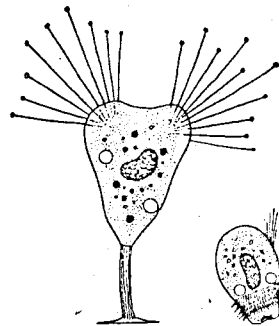
A ciliaták egy csoportja helyhez kötött életmódot folytat. A *Vorticella* kehelyszerű peremén elhelyezkedő csillósorok működése hajtja a táplálékot a szájnyíláshoz. Hasonló módon célszerűen elhelyezkedő csillók segítik a tápanyag felvételt az *Euplotes* számára.



*Vorticella*



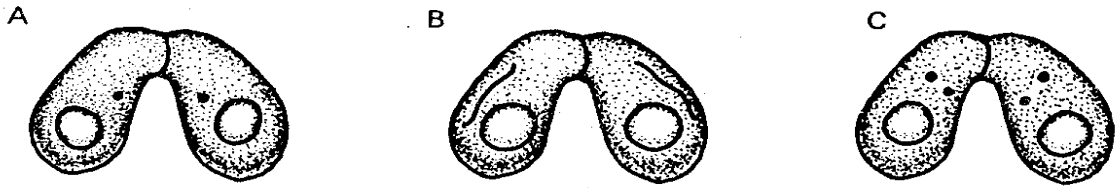
*Euplotes*



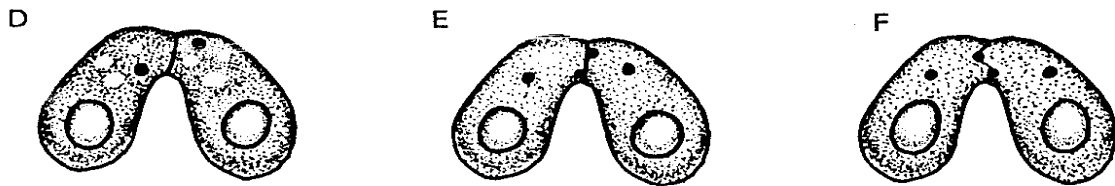
*Suctoria*

A szívó életmódot folytató protozoák, a Suctoria-félék felületén a csillók helyett érzékelő szőröket találunk. Fiatal korban ezek a sejtek mozgékonyak, majd kedvező helyet találva áttérnek a szívó életmódra. A kérődzők bendőjében élő protozoák anaerob életmódot folytatnak. Az ott folyó lebontó folyamatban fontos szerepet töltenek be a Prostomatidák közé tartozó *Isotrichia intestinalis* és a *Dasytrichia ruminantium*. (3.3.2.3. fejezet)

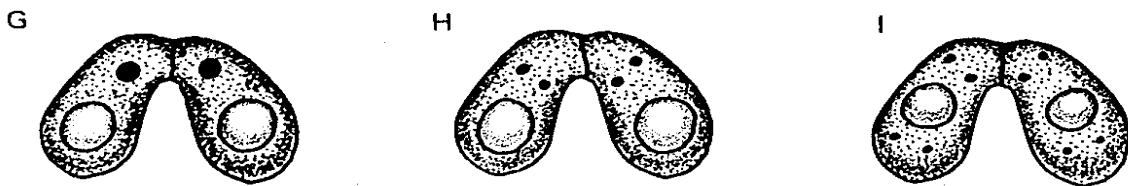
## A CILIATÁK SZEXUÁLIS FOLYAMATÁNAK VÁZLATA



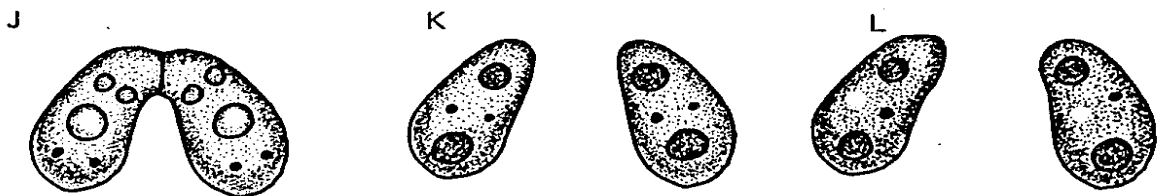
A szexuális aktus elindulása után a mikronukleusz fonálszerűvé alakul. A kromoszóma kettőződése után létrejön a redukzív divízió, amely végül négy haploid



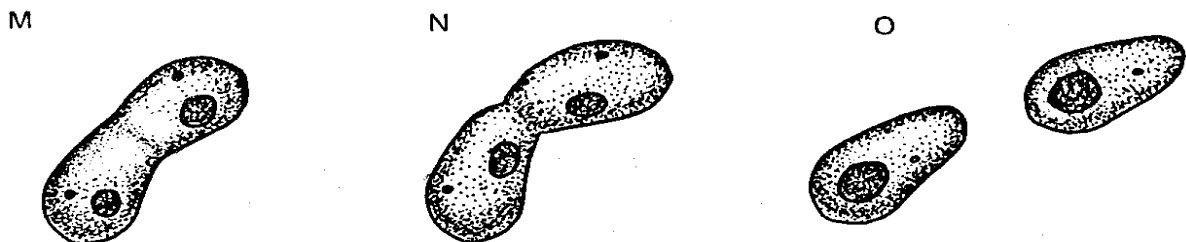
mikronukleuszt tartalmaz. Ebből három degenerálódik. A negyedik ketté osztódik és a membránhoz vándorló egyik haploid magvacska átkerül a párosodó partnerbe



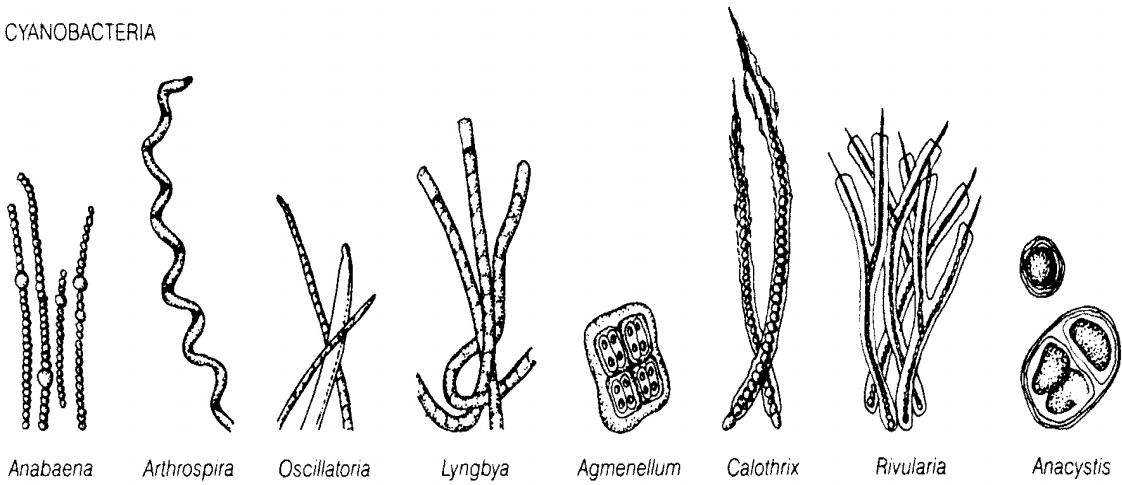
A magfúzió után a magvacska két osztódási ciklus keretében négy-négy magra oszlik



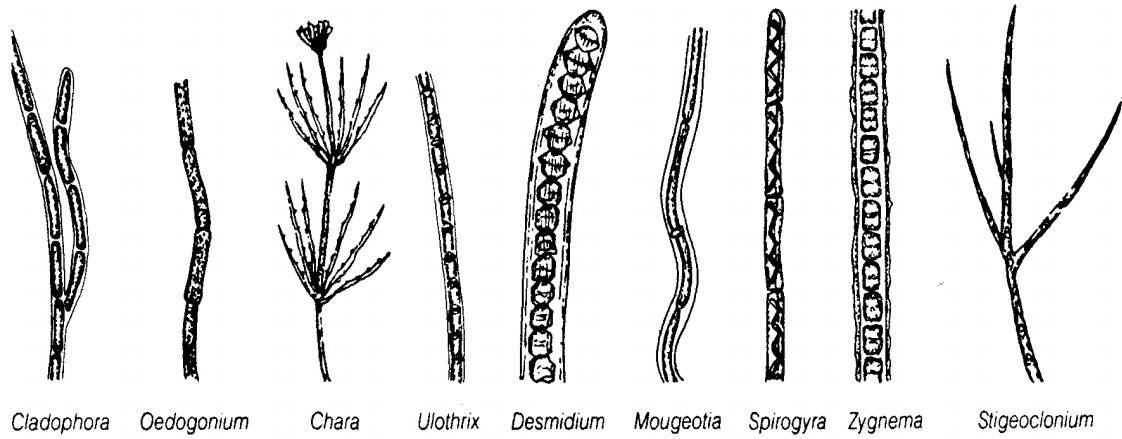
A magvacskákból megkezdődik az új makronukleusz kialakulása és a régi makronukleusz felszívódása. Végül a kialakuló mikronukleusz vezeti be a kettőződést



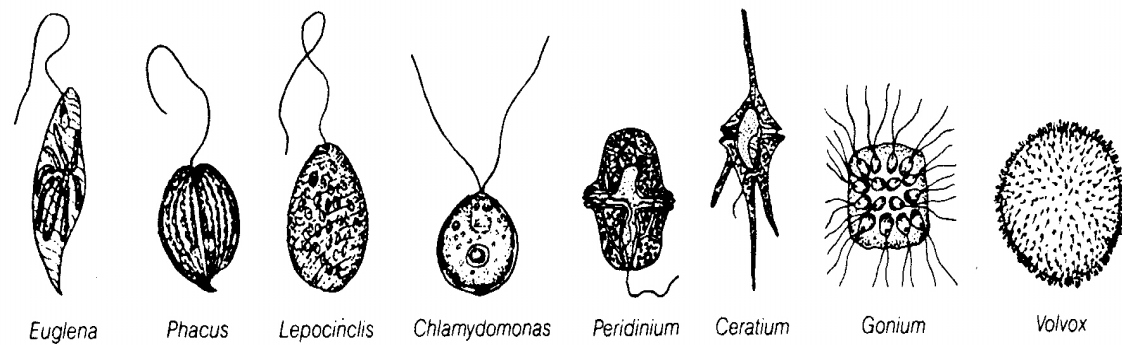
CYANOBACTERIA

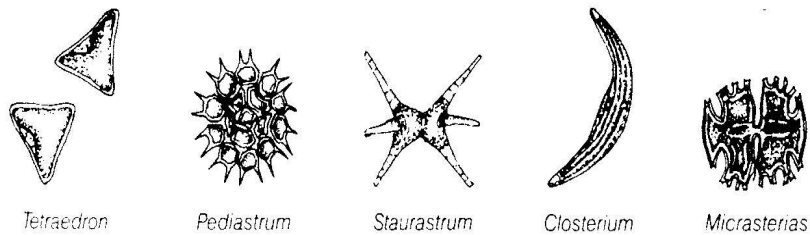
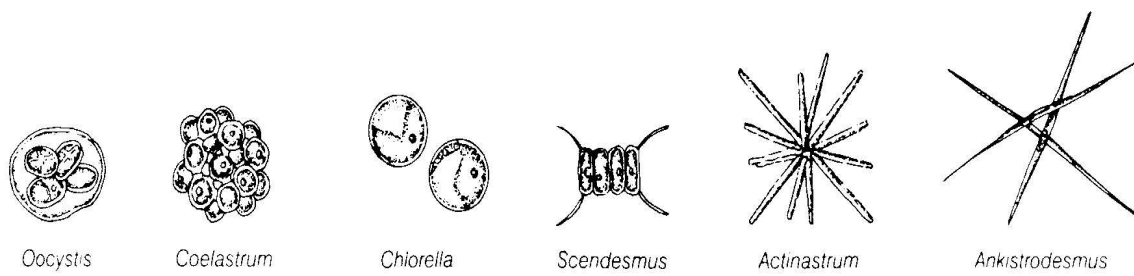


FILAMENTOUS EUKARYOTIC ALGAE



FLAGELLATED EUKARYOTIC ALGAE





CHRYSTOPHYTA

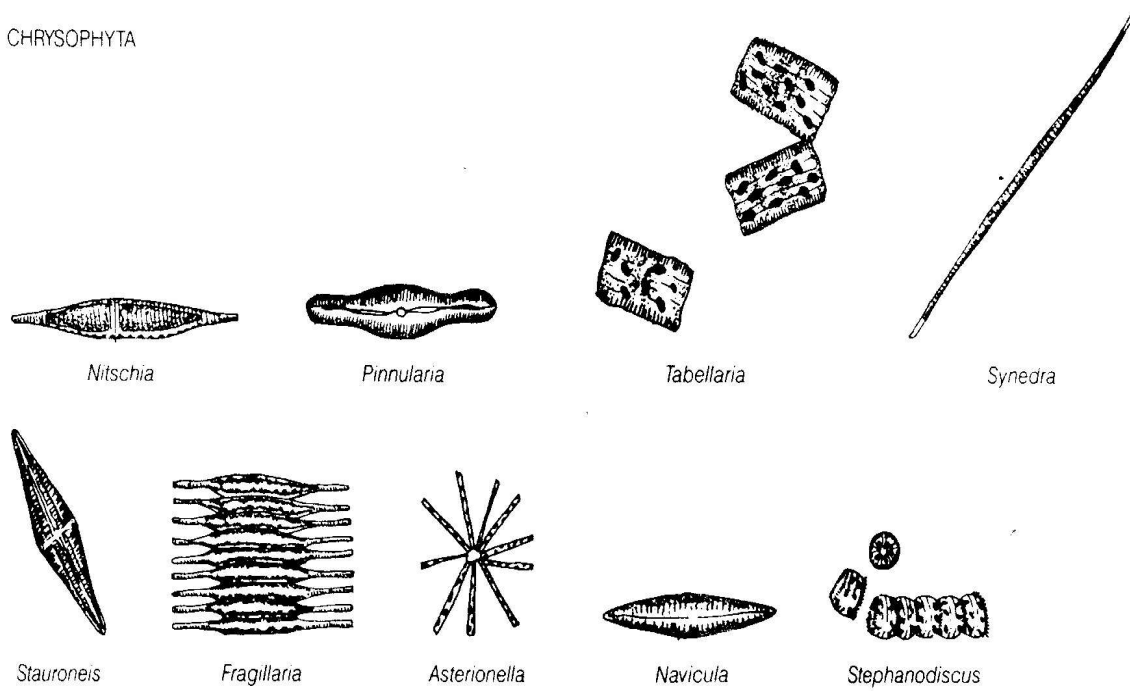


Figure 31-1 Continued