

OTKA 42703

Kis molekulatömegű polipeptidek hatása a polimer glutenin polimerizációs fok szerinti eloszlására és a sikérkomplex reológiai tulajdonságaira.

SZAKMAI BESZÁMOLÓ . ZÁRÓJELENTÉS

AZ EREDMÉNYEK ÁTTEKINTÉSE

A 2003-2007 évek közötti időszakban 3 évjáratban vizsgáltuk a sikért alkotó fehérjék bioszintézisét a búzaszem fejlődése során a virágzás utáni 12. naptól kezdve az érésig. Ugyancsak tanulmányoztuk a magból kinyerhető sikérkomplexum reológiai tulajdonságait tiszta állapotban és tésztarendszerekben. A vizsgálati minták részben kísérleti gazdaságból és részben nagyüzemi termelő egységből származtak, ami a mikrovizsgálatok mellett bizonyos makrovizsgálatok elvégzését is lehetővé tették. Sikeres módszertani kutatásokat (főleg a polipeptidek, ezen belül a glutenin alegységek HPLC-és elválasztásának a tökéletesítése, és reológiai mikrovizsgálatok) követően került sor a szemfejlődés során gyűjtött mintasorozat vizsgálatára. Fontosabb megállapításainkat a következőkben soroljuk fel.

I. A sikéralkotó polipeptidek szintézise.

Támaszkodva a kidolgozott hatékonyabb elválasztási technikákra- a fő hangsúlyt az egyes fehérjefrakciók illetve polipeptidek mennyiségi arányainak a tanulmányozására fordítottuk a szemfejlődés során bővítve a vizsgált hazai termesztésű búzafajták számát és egy üzemi méretű búzatermelő gazdaság mintáit is bevonva a kutatásba. .. A frakciók közül a legnagyobb figyelmet a HMW-glutenin alegységekre és a gliadin polipeptidekre fordítottuk. Előbbiekre a polimerizációs folyamatban betöltött fontos szerepük miatt, míg az utóbbiaknál a sikérkomplex reológiai tulajdonságainak a kialakításában játszott szerepük nem kielégítő eddigi ismerete folytán.

Az eredmények megerősítették azt a –több külföldi kolléga által vitatott- nézetünket, hogy a szemfejlődés során bekövetkező fehérje bioszintézis időbeli mennyiségi lefolyására általában elfogadott szigmoid görbe jelentősen módosulhat az időjárási tényezők hatására oly mértékben, hogy helyi maximumok is előfordulhatnak. Megfigyelhető, hogy a késői virágzású fajták (virágzás időpontja genetikailag meghatározott) érzékenyebben reagálhatnak a környezeti hatásokra.

Eltéréseket mutattunk ki mind a szintézis szekvenciában mind a translációs folyamat sebességében. Megállapítottuk, hogy a citoplazmatikus fehérjék bioszintézisét követően már a szemfejlődés korai szakaszában megindul a sikérképző polipeptidek szintézise is (gliadinok, LMW = low molecular weight glutenin subunit., HMW= high molecular weight glutenin subunit sorrendben). Megállapításunkat alátámasztják newmrégen publikált immunanalitikai és RNS vizsgálatok is. Megállapítottuk, hogy a D-kromozómán kódolt polipeptidek szintézise indul meg először.

II. Sikéralkotó polipeptidek kölcsönhatásai, sikérképződés

Az üzemi méretű termelő partner bevonása lehetővé tette a mintamennyiségek növelését, és a Tanszéken (ausztráliai partnerekkel együttműködve kifejlesztett mikroreológiai módszerek megbízhatóságát növelő fejlesztést (mikromalom, mikrovalorigráf, mikroextenzométer) és ezen keresztül a lehetőséget, hogy mintákat vizsgálhattuk a kísérleti parcellák esetében óhatatlanul fennálló mintamennyiségi korlátok nélkül.

Folytatva az egyes sikérképző polipeptidek szintézise dinamikájának összehasonlító vizsgálatát azt kiegészítettük a glutenin alegységek polimerizációs kinetikájának, az alegységek kölcsönhatásainak tanulmányozásával. Lehetővé vált a sikérkomplex kialakulási dinamikájának a tanulmányozása és a kinyerhető nedves sikér reológiai vizsgálata.

Megállapításaink közül kiemeljük a következőket

- a glutenin alegységek polimerizációja a polipeptid szintézishez képest fáziskéséssel indul. Így sikér csak a virágzás utáni 20-25. naptól kezdve nyerhető ki.
- Bevezettük előbbiekkal kapcsolatban a kritikus peptid koncentráció és a kritikus polimerizációs fok fogalmát, amelyek elérése a sikérkialakulás feltétele. A HMW illetve LMW polipeptidek összmenyiségének és a keletkező polimer glutenin mennyiségének összehasonlítása azt mutatja, hogy a szemfejlődés jelentős szakaszában az LMW és HMW polipeptidek nagy része monomer (esetleg oligomer) formában van jelen. Ez is alátámasztja azt a nézetet, hogy első polimer "magok" kialakulásának feltétele egy határkoncentráció elérése. Erre utal az is, hogy a szemfejlődés későbbi szakaszában a szintetizálódó polipeptidek szinte azonnal kapcsolódnak a polimerhez. Az újabb minták vizsgálata is megerősíti, hogy mennyiségileg a B és D kromoszómán kódolt HMW polipeptidek az uralkodók. Több jel mutat arra- más kutatók adatait is áttekintve, hogy a B kromoszómán kódolt HMW-k megnövelt expressziója minőségjavító hatású.

III.A sikér reológiai vizsgálata.

Megállapítottuk, hogy a mintákból kinyert sikér oldatainak a relatív viszkozitása növekszik a szemfejlődés során. A viszkozitás változás görbéje jól követi a kinyert sikér gluteninjének átlagos polimerizációs fokát.

A sikérolat viszkozitásának koncentráció függése alátámasztja a gluteni molekula lineáris jellegét.

Buzaliszt-amarant fehérje izolátum tartalmú tészta mikrovalorigráfos vizsgálata nem mutatott ki szerkezeti inkompatibilitást a kétféle fehérje között

Eredményeinket jelentős számú publikációban és tudományos rendezvényeken mutattuk be.