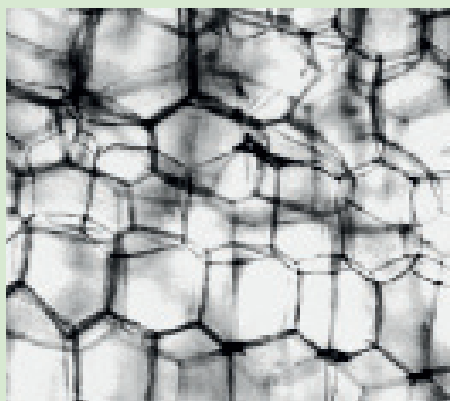


Antrakinonok	aloe-emodin, aloesav, antranol
Szénhidrátok	mannóz, glükóz, mannán, acetilezett mannán, hemicellulóz
Enzimek	alkalikus foszfatáz, amiláz, kataláz
Aminosavak	alanin, arginin, asparaginsav, glutaminsav, glicin, hisztidin, izoleucin, leucin, lizin, prolin, tirozin,
Vitaminok	B1, B2, B6, C, β-karotin, kolin, folsav
Egyéb szerves vegyületek	lipidek: szteroidok, koleszterol, trigliceridek, szalicilsav
Szervetlen vegyületek	kalcium, klór, króm, réz, vas, magnézium, mangán, kálium, foszfor, nátrium, cink

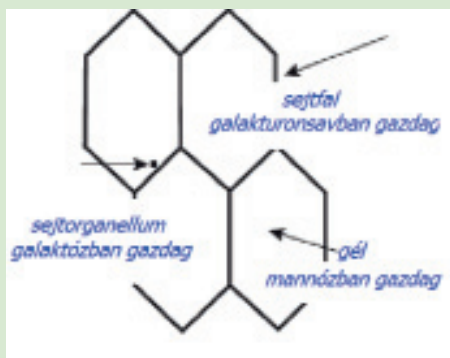


SAV A MALÁRIA ELLEN

A glükonsav képlete $C_6H_{12}O_7$. Vizes oldatban, semleges pH értéken glukonát-iont alkot, sőt glukonátoknak nevezik. A természetben számos helyen jelen vannak, mert a glükonsav és a glukonátok a glükóz oxidációja során keletkeznek. Számos észtere is előfordul, például a kinin-glukonátot a malária ellen szerként, izomszövetbe adott injekcióként szokták alkalmazni.

belül. A három komponens eltér egymástól mind a morfológiájukban, mind poliszaharid tartalmukban. A sejtfal gazdag galakturonsavban, glükonsavban, a mikrorészecskék galaktózban. A gél 97-99,5 százalékban vizet és 0,5-3 százalék szárazanyagot tartalmaz, ami poliszaharidokban, elsősorban mannózban gazdag. A mannóz oldható poliszaharid és a gél viszkoelasztikus tulajdonságaiért felelős.

Kőszegi Lidia



✳ Olvasnivalók:

Josias H. Hamman
Molecules 13, 1599-1616, 2008,

Y. Nia., D. Turnerb, K.M. Yatesa, I. Tizardb
International Immunopharmacology 4
1745-1755, 2004

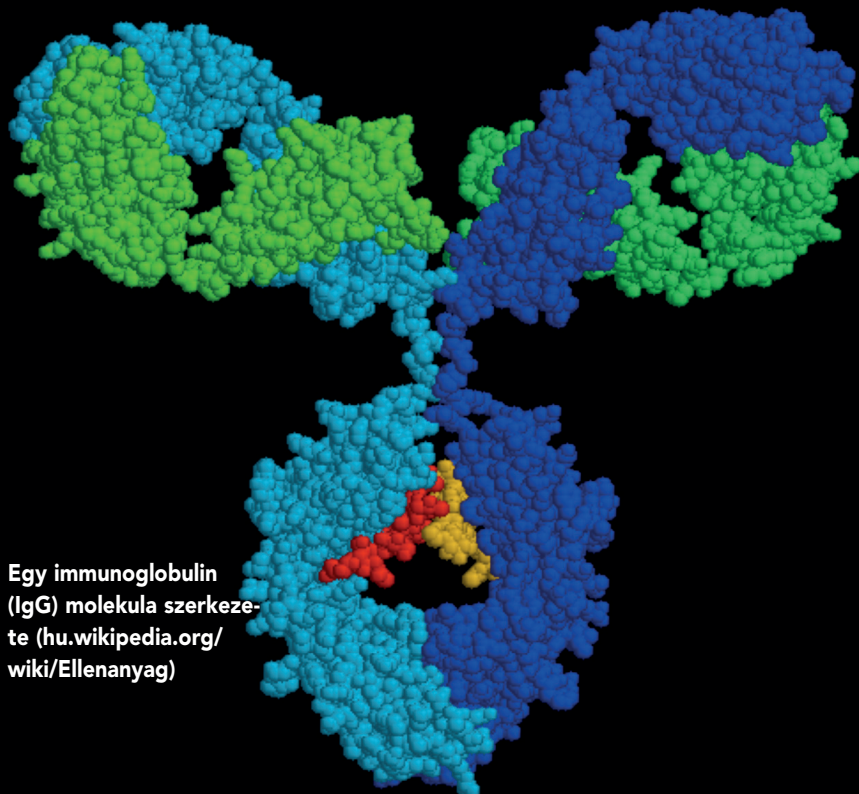
Yun Hu, Juan Xu, and Qihui Hu
J. Agric. Food Chem., 51, 7788-7791,
2003

Immunfehérjék akcióiban

2012-t az UNESCO Szentágotthai emlékévvé nyilvánította. A legendás neuroanatómus és egyetemi tanár emléke előtt tisztelegve egy olyan vizsgálati technikát mutatunk be, amelynek segítségével láthatóvá és megérthetővé válhatnak a Szentágotthai János kutatásának is középpontjában álló neuronális hálózatok, azok funkcionális anatómiája

Az immunfestés, más néven immunhisztokémia a jelenleg használt leggyakoribb módszer arra, hogy egy fehérje elhelyezkedését meghatározzuk agyszövetben, vagy bármely más élő szövetben. Bár a módszer alapjai az 1970-es évekre nyúlnak vissza, az elmúlt évtizedek alatt jelentős fejlődésen ment keresztül. A lényeg viszont nem változott, egy antitestet kell termelni, ami a vizsgálni kívánt fehérjéhez hozzá tud kötődni, miközben a szövetben lévő más fehérjékhez nem kapcsolódik. A vizsgálandó fehérjére specifikus antitestek gyártására még

Folytatás a 24 oldalon



Egy immunoglobulin (IgG) molekula szerkezete (hu.wikipedia.org/wiki/Ellenanyag)

Immundefehérjék akcióiban

Folytatás a 23 oldalról

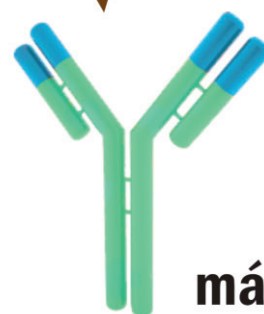
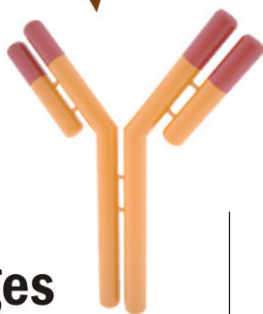
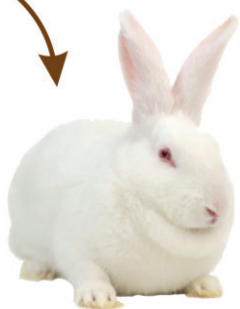
jelenleg is egy biológiai folyamatot használunk, ez az immunválasz és innen ered az immunfestés elnevezés. A keresett fehérjét, vagy annak egy darabját állatok, praktikus szempontokból elsősorban nyúl vagy egér szervezetébe juttatják.

Az állat immunrendszerre felismeri a számára idegen fehérjét, és immunválasz keretében néhány hét alatt kitermeli az arra specifikus antitestet, egy immunoglobulin fehérje molekula-

tet. Tapasztalat szerint a direkt immunhisztokémia, amikor a primer antitestre kémiai festéket vagy enzimet viszünk fel, nem elég érzékeny ahhoz, hogy valóban láthatóvá tegyünk a fehérjét mikroszkópos elemzés számára. Ezért további erősítési lépések beiktatására van szükség, melyek közül a következőt alkalmazzák leggyakrabban: a például nyúlban termelt primer antitestet, illetve annak egy, az eredeti fehérje felismerésében nem résztvevő darabját egy

A kémia ebben az esetben is hasznos eszközöket ad a kutató orvosok, biológusok kezébe

másik faj, leggyakrabban kecske szervezetébe juttatják. Ennek hatására a kecskében olyan antitest képződik, ami hozzá tud kötődni a nyúl által termelt elsődleges antitesthez. Mivel a kecskében termelt antitestet másodszor alkalmazzuk, azt másodlagos antitestnek is nevezzük az immunfestés során. Erre a másodlagos antitestre kémiai reakcióval vagy fényben világító, fluo-



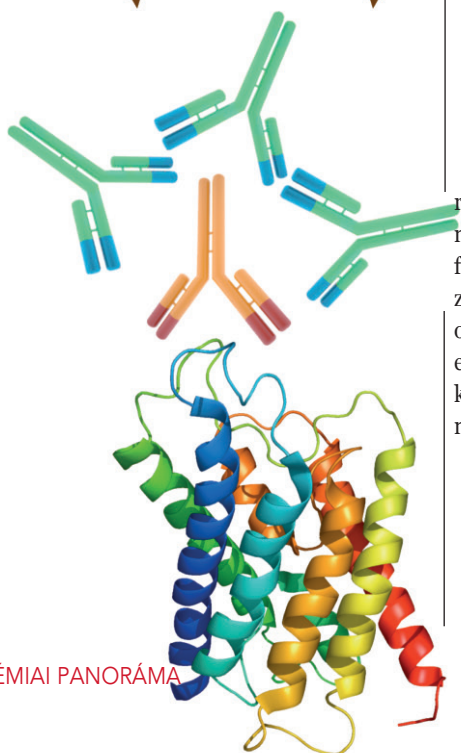
elsődleges antitest

másodlagos antitest

lát, amit utána a vérből tisztítással nyerünk ki.

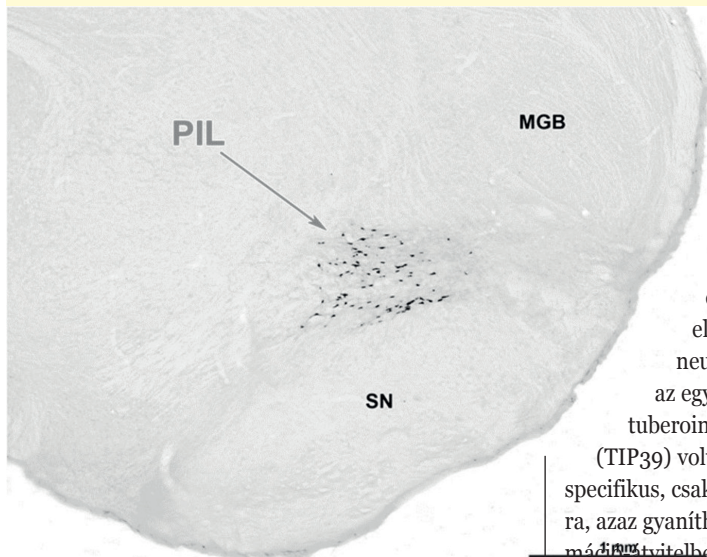
Ezek után más csak arra van szükség, hogy az antitestet láthatóvá tegyünk. Ez nem könnyű, hiszen általában nagyon kis mennyiségű fehérjét kell úgy kimutatnunk, hogy közben a szövet struktúrája ne változzon meg (az immunfestés egy rokon módszere az úgynevezett western blot technika, amivel kisebb mennyiségű fehérjét is ki lehet mutatni, viszont a szövet struktúrája elvész). A szövetből általában vékony, 10-50 µm vastag szeletet vágunk, és ehhez öntjük hozzá az antites-

reszcens kismolekulájú festéket, vagy enzimet kötnek. Az enzim kiválasztásakor a legfontosabb szempont az, hogy az általa katalizált reakcióban részt vevő vegyületek vízben oldódva színtelenek legyenek, azonban az enzim jelenlétében bekövetkező specifikus kémiai reakció révén vízben nem oldódó, színes vegyület képződjön. Így a reakciótermék



vizsgálendő fehérje

Antitestek előállítása és felhasználása



TIP39 sejtek elhelyezkedése patkány anya agyában a talamusz un. posterior intralamináris magjában (PIL). Környező agyi struktúrák: MGB (medial geniculate body), és SN (substantia nigra)

a vizes közegben kicsapódik, mégpedig olyan gyorsan, hogy nincs ideje szétfundálni. Ez a reakció a szöveten elszíneződést okoz éppen ott, ahol a vizsgált fehérjénk előfordul. A leggyakrabban alkalmazott enzim a tormánövényből származó peroxidáz enzim. Ez többféle reakciót is katalizálhat, de legáltalánosabban használt a

3,4,3',4'-tetraaminobifenil-hidroklorid, másnéven 3,3'-diaminobenzidin (DAB) konverziója, mely a mellékelt reakciónak megfelelően alakul át vízben és szerves oldószerekben egyaránt oldhatatlan barna színű polimerre.

A szoptatás neuroanatómiája

A következőben az immunfestés rengeteg biológiai felhasználása közül egy példa bemutatásával illusztrálom annak hasznosságát. Ismert, hogy a DNS-en kódolt 3-50 aminosavból álló neuropeptidok az agysejtek

közötti kommunikációban vehetnek részt. A neuropeptidekre az jellemző, hogy nem minden sejtre hatnak, hanem csak meghatározott idegrendszeri funkciókban vesznek részt. Az elmúlt években több neuropeptidet is azonosítottak, az egyik az úgynevezett tuberoinfundibuláris peptid 39

(TIP39) volt. Ennek a fehérjének létezik specifikus, csak öt felismerni képes receptor, azaz gyanítható volt, hogy az agyi információátvitelben részt vesz, de a funkciója egyáltalán nem ismertük. Első lépésként tehát meg kellett vizsgálni immunfestés segítségével, hogy hol van TIP39 az agyban. Csak 3 db, egyenként kb. 5000 sejtet tartalmazó sejtcsoportban volt jelen a TIP39, azaz a TIP39-et kódoló gén csak ezekben a sejtekben aktiválódik a több 10 milliárd idegsejt közül. Az immunfestés ráadásul azt is megmutatta, hogy az egyik sejtcsoport hím állatokban nem tartalmazta a TIP39-et, ez csak nőstényekben, azon belül is csak anyaállatokban fordult elő.

Ebből következtetni lehetett rá, hogy ezek a sejtek olyan funkcióban vesznek részt, ami az anyákra jellemző. Ez a sejtcsoport az agy talamusz nevű részén helyezkedett el, ami az érzékszervekből származó ingerületeket továbbítja a magasabb területek felé. Szintén immunfestés segítségével sikerült kimutatni, hogy a TIP39 nemcsak a sejtestekben van jelen, hanem idegrostokban is.

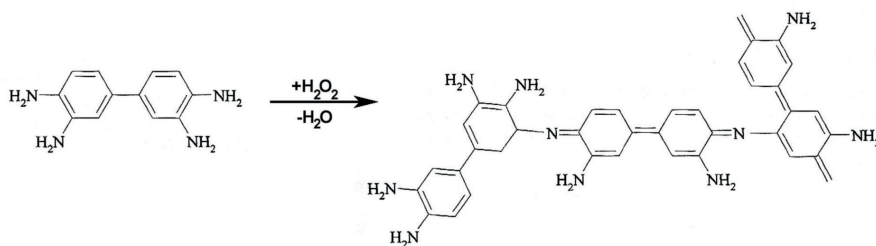
Idegrostokban neuropeptidok sosem szintetizálódnak, oda mindig a sejtestekből kerülnek transzportfolyamatok segítségével. Immunhisztokémiai eljárásokkal láthatóvá váltak TIP39 tartalmú idegrostok anyaállatok endokrin hipotalamikus agyterületén, ami a

talamusz alatt, az agy alapjánál helyezkedik el. Ennek a területnek az egyik funkciója, hogy irányítja a hipofízisben zajló prolaktin felszabadulását. A prolaktin nevű hormon a vérbe jutva a tejtermelés beindítását és fenntartását szolgálja. A TIP39 receptora ellen termelt antitestek segítségével azt is sikerült immunfestéssel kimutatni, hogy az endokrin hipotalamuszban levő sejtek tartalmazzák a TIP39 receptort, vagyis az ide a talamuszból érkező idegrostokból ingerület hatására felszabaduló TIP39 ezen receptorokon keresztül képes befolyásolni a prolaktin felszabadulását, így a tejtermelést. További immunhisztokémiai vizsgálatok arra is fényt derítettek, hogy a talamuszban levő TIP39 tartalmú idegsejtek a gerincvelőnek abból a részből kapnak beidegzést, melyek szoptatás hatására aktiválódnak. Létezik egy fehérje, a Fos fehérje, ami nyugalomban levő neuronokban nincsen jelen, de aktiváció hatására megjelenik, és jelenléte immunhisztokémiai módszerekkel kimutatható. Ezen fehérje immunhisztokémiai vizsgálata révén sikerült azt is bizonyítani, hogy a talamuszban levő TIP39-et tartalmazó sejtek Fos fehérjét kezdenek kifejezni, vagyis aktiválódnak anyaállatokban szoptatás hatására. További funkcionális vizsgálatok is megerősítették a TIP39 szerepét a szoptatás hatására meginduló tejléválasztás szabályozásában. Mindezeket a vizsgálatokat nem lehetett volna elvégezni az immunfestés által nyújtott információk nélkül, melyek mint láthatjuk, bizonyos fehérjék elhelyezkedésének meghatározása révén fontos információkat adnak nem csak az adott fehérje területi eloszlásáról, de funkciójáról is.

Az immunfestést általános jellege, és az általa nyújtott információ hasznossága az egyik leggyakoribb kutatási technikává tette. A fent említett módszeren kívül számos variációja ismeretes, melyek tovább szélesítik az alkalmazások körét. Így bár alternatív technikák jelentek meg az utóbbi időben a fehérjék jelenlétének szövetben való kimutatására, az immunfestés továbbra is őrzi jelentőségét a biológiai-biokémiai tudományokban, valamint az orvostudományban, a szövettani diagnosztikában.

Dr. Dobolyi Árpád
Semmelweis Egyetem,

Neuromorfológiai Laboratórium



Peroxidáz enzim jelenlétében a DAB polimerizálódik és vizes oldatból kicsapódik