

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

Almási Éva

A *Schizophyllum commune* morfológiai és molekuláris jellemzése

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

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

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

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

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

technikával precízebben tudjuk nyomon követni a gomba különböző szerveiben, szöveteiben végbemenő molekuláris folyamatokat.

Tóth Liliána

A *Neosartorya* fonalagomba nemzetség által termelt új, β -defenzinszerű antifungális proteinek

Az utóbbi években jelentősen emelkedett az olyan opportunista gombafertőzések száma, amelyet legyengült szervezetű betegekben, egyébként egészséges emberrel szemben nem patogén gombák okoztak. Az ilyen, és más gombás fertőzések kezelése sokszor nehézkes, mivel a rendelkezésre álló terápiás szerek száma alacsony, gyakran szűk spektrumúak és számos mellékhatással rendelkeznek. Mindezekből következően új, hatékony antifungális szerek kifejlesztése vált szükségessé.

Az 1990-es évek második felétől számos, a β -defenzinekhez nagymértékben hasonló antifungális proteint izoláltak Ascomycota fonalagombákból. Ezek számos tulajdonsága megfelel az újonnan kifejlesztődő gombaellenes szerekkel szemben támasztott legfontosabb követelményeknek, ezáltal ígéretes jelöltek lehetnek új, fehérjén alapuló gombaellenes stratégiák kifejlesztésére. Az Ascomycota fonalagombák által termelt β -defenzinszerű proteinek aminosav sorrendje eltérő, de konzervált homológ régiók minden esetben megtalálhatók bennük. Ezek alapján két csoportot különíthetünk el: proteinek, amelyek a *Penicillium chrysogenum* antifungális proteinre (PAF) jellemző klasztert tartalmazzák, illetve azok, amelyek a *Penicillium brevicompactum* "bubble protein"-re (BP) jellemző klaszterrel rendelkeznek. A BP klasztert hordozó peptidek elsősorban az élesztőgombák növekedését gátolják, míg a PAF klaszterrel rendelkezők a fonalagombák ellen hatékonyak. A *Neosartorya fischeri* NRRL 181 izolátum fermentlevéből mind a két csoportba tartozó protein izolálható: a PAF klaszterrel rendelkező *N. fischeri* antifungális protein (NFAP) és a BP klaszterrel rendelkező protein *N. fischeri* bubble protein (NFBP). Munkánk során jellemeztük az NFAP-t, továbbá számos *nfap* és *nfbp* ortológ gént izoláltunk *Neosartorya* nemzetségbe tartozó más fajokból.

Az előadás célja a *Neosartorya* nemzetség által termelt és lehetségesen termelt antifungális proteinek tulajdonságainak összefoglalása és az azokkal kapcsolatos kísérleti eredmények ismertetése.