Az orvosi mikrobiológia tankönyve

A fertőző ágensek rendszertana: vírusok, baktériumok, gombák, stb

https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_524_Mikrobiologia/ch02.html

Tibor, Pál

Medicina Könyvkiadó Zrt.

2. fejezet - 2.ÁLTALÁNOS ORVOSI MIKROBIOLÓGIA

Tartalom

A MIKROBÁK
- A fertőző ágensek rendszertana
- A prionok
- A vírusok – Általános virológia
- A baktériumok – Általános bakteriológia
- A gombák – Általános mikológia
- A protozoonok és férgek – Általános parazitológia

2.2. A MIKROBÁK ÉS A GAZDASZERVEZET KÖLCSÖNHATÁSAI
- A normál flóra tagjai, a kórokozók és a fertőzés
- Patogenitás és virulencia, virulenciafaktorok

2.3. IMMUNITÁS
- Az immunrendszer működése
- Immunológiai védekezés a fertőzésekkel szemben
- A fertőzésekkel szemben kialakuló immunválasz patogenetikai szerepe

2.4. DIAGNOSZTIKA, TERÁPIA, MEGELŐZÉS
- Klinikai mikrobiológiai vizsgálatok
- Antibiotikumok és kemoterápiás szerek
- Sterilizálás és dezinficiálás
- Védőoltások, immunprofilaxis, immunterápia

A MIKROBÁK

A fertőző ágensek rendszertana

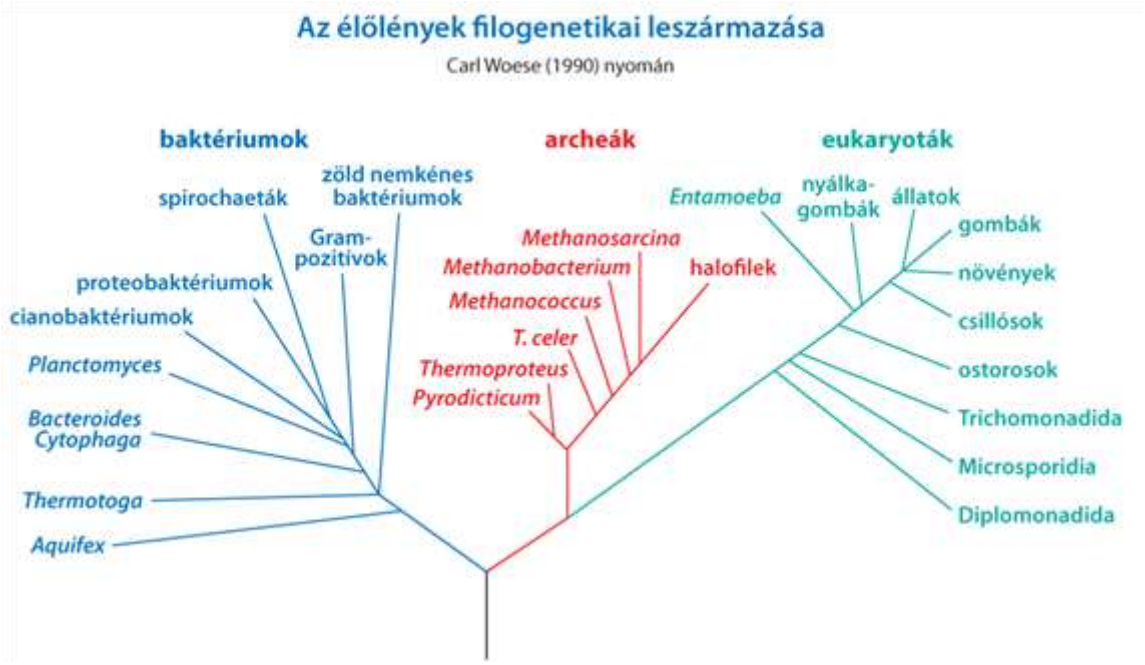
Pál Tibor

Az élőlények rendszerbe foglalásával a *rendszertan (taxonomia)* tudománya foglalkozik, mely az *osztályozásból (classificatio)*, azaz az élőlények csoportosításából, a *nevezéktanból(nomenclatura),* meghatározott szabályok szerinti elnevezésükből, és *az azonosításukból (identificatio),* egy adott példány rendszerben elfoglalt helyének megállapításából tevődik össze.

Az orvosi mikrobiológia által vizsgált fertőző ágensek elhelyezése az élőlények rendszerében nem problémamentes. Eleve gondot jelent, hogy egyes ágensek, pl. a vírusok, élő mivolta

megkérdőjelezhető, és a vita – hogy helyük van-e az Életfán – a mai napig tart. Tény, hogy számos, általánosan elfogadott életjelenséget nem mutatnak, és csak a megfertőzött sejtek segítségével tudják önmagukat reprodukáltatni. Ugyanakkor gyakorta hangoztatott érv, hogy az élő rendszerekre jellemző, az átörökítő anyag változékonyságán alapuló fejlődés, evolúció a vírusok esetében is megfigyelhető, illetve, hogy természetes körülmények között gyakorlatilag minden élő rendszer másokkal áll kölcsönhatásban, ha nem is olyan mértékben, mint a vírusok. Bár a vita még távolról sem zárult le, jelenleg a vírusokat és prionokat nem tartalmazza az élővilág rendszertana.

A közelmúltig elterjedt volt *R. H. Whittakernek*, az élőlényeket a sejtmag jelenléte, az egy-, vagy többsejtű szerveződés, és az energiatermelés, illetve táplálék szerzés módja alapján öt „királyságra" (kingdom) felosztó rendszere. A *Monérák* jelentették gyakorlatilag a prokariótákat, a *Protisták* az egyszerű, egy vagy többsejtű, de szöveteket nem képező eukariótákat, illetve a további három csoport voltak a *Gombák*, *Növények* és *Állatok*. A genetikai módszerek alkalmazása, elsősorban a riboszómális *RNS gének szekvenciájának* összehasonlítása révén ezt váltotta fel a jelenleg leginkább elfogadott ún. *három domén rendszer***(2.1.1. ábra)**.



2.1.1. ábra. Az élőlények „három domén" rendszere

Ez a prokariótákat két nagy doménre osztja: a *baktériumokra* és *archeákra*, míg az *eukaryoták* jelentik a harmadik domént, magukba foglalva a protistákat, gombákat, növényeket és állatokat, mint „országokat" (regnum).

A baktériumok között számos orvosi szempontból fontos kórokozót találunk, csakúgy, mint az eukaryota protisták (pl. protozoonok) és állatok (férgek) között. Az archeák prokaryoták, de a baktériumoktól például riboszomális RNS-ük bázissorrendje alapján világosan elkülöníthetőek. Érdekes, hogy sejtösszetételüket, transzkripciós és transzlációs rendszerüket tekintve néhány szempontból az eukaryotákra emlékeztetnek. Bár kórokozót nem ismerünk közöttük, a bioszférában rendkívül elterjedtek, számos képviselőjük „extremofil", azaz extrém körülmények között, sőt, esetleg csak azok között életképes.

A biológiai rendszerezés során a *fajt* tekintjük a rendszer alegységének, melyek aztán *nemeket (genus), nemzetségeket, családokat, rendeket, osztályokat, törzseket* és *országokat* alkotva rendeződnek a doménekbe. Bár a faj meghatározása a szexuális úton szaporodó élőlények között sem teljesen problémamentes, ott a gyakorlatban jól bevált megközelítés szerint két egyedet azonos fajhoz tartozónak tekintünk, ha azok egymással természetes körülmények között párosodnak, és nemzőképes utódot tudnak létrehozni. Ez a megközelítés azonban az osztódással szaporodó baktériumokra természetesen nem alkalmazható. Esetükben akkor tekintünk két egyedet egy fajba tartozónak, ha azok „kellően hasonlóak egymáshoz". Természetesen a kérdés az, hogy mit tekintünk meghatározónak, az összehasonlítás alapjának, és milyen mértékű hasonlóságot fogadunk el határértéknek. Tovább bonyolítja a helyzetet, hogy míg a magasabb rendűeknél egy-egy egyedet vizsgálunk, a baktériumoknál mindig sejtek tömegével, azaz egy populációval állunk szemben. Végül az ideális, evolúciós ismereteken alapuló bakteriális rendszertan létrehozását nagymértékben gátolja a fosszilis leletek hiánya.

A baktériumfajok meghatározáskor kezdetben gyakorlatilag kizárólag *fenotípusos* bélyegeket használtak. Két módszer alakult ki: Az úgynevezett *filogenetikai osztályozás* során bizonyos konzervált tulajdonságok (pl. a sejtfal szerkezete, spóraképzés) kiemelt jelentőségét kapnak, és ezt követi a változékonyabb tulajdonságok, pl. különböző szénhidrátok fermentálásának vizsgálata. Az izolált kórokozók mindennapi azonosítása során általában ezt a megközelítést alkalmazzuk.

A *fenetikus osztályozásnál* minden vizsgált tulajdonság egyformán esik a latba. A módszer annál pontosabb, minél nagyobb számú (esetleg száz feletti) tulajdonságot vizsgálunk. Tekintve, hogy az egyes reakciókban kapott eredmények nem súlyozottak, és pozitívak vagy negatívak lehetnek, az értékelés könnyen bízható számítógépre. Két törzs összehasonlításakor számolhatunk ún. *hasonlósági együtthatót (similarity coefficient),* azaz a mindkét törzs által mutatott pozitív eredmények arányát, vagy az ún. *találati együtthatót (matching coefficent),* amikor is úgy a pozitív, mind a negatív eredményeket figyelembe vesszük, ha mindkét törzsben azonosak voltak. Az eredmények grafikusan hasonlósági mátrixok vagy *dendrogramok* (fa görögül: dendron) formájában ábrázolhatóak. Durva közelítéssel azt mondhatjuk, hogy kb. 65%-os együttható esetén a két törzs azonos genusba, 80% felett azonos fajba tartozik. A könnyű „matematizálhatóság" miatt kapta a módszer újabban alkalmazott nevét is: *numerikus rendszertan.*

Bár nagyon sok változást hoztak, a molekuláris, *genetikai módszerek* elterjedése során talán inkább mégis az volt a meglepő, hogy milyen gyakran igazolták a fenotípusos módszerek szolgáltatta korábbi besorolások helyességét. A legelterjedtebb genetikai módszer a vizsgált törzsek teljes genomjának standard paraméterek mellett történő *DNS-DNS hibridizációval* történő összehasonlítása. A fenotípus alapú rendszertan eredményeivel történő összehasonlítás alapján általában akkor tekintünk két egyedet egy fajba tartozónak, ha DNS-ük legalább 70%-os kapcsolódást mutat, és olvadási, denaturálódási hőmérsékletük (melting temperature, Tm) között 5%-nál kisebb a különbség.

Az utóbbi húsz évben e módszert egészíti ki a *16S riboszómális RNS gének szekvenciájának* vizsgálata. A közös fajba tartozás feltétele általában e gének szekvenciájának minimum 97%-os azonossága. A két genetikai módszer egymással nem helyettesíthető, de jól kiegészítik egymást, amellett, hogy a végső besoroláshoz az alapvető fenotípusos bélyegeket változatlanul figyelembe veszik. Előfordul az is, hogy gyakorlati megfontolások alapján egyes, amúgy genetikailag egy fajnak minősülő mikrobákat a meggyökeresedett klinikai

hagyomány, az okozott kórképek különbözősége miatt változatlanul külön fajként tartunk nyilván (például: *Neisseria gonorrhoeae* és *N. meningitidis* vagy *Escherichia coli* és a shigellák). A baktériumok rendszertani besorolásakor változatlanul meglévő bizonytalanságok adják a magyarázatát, hogy az olvasó e tankönyvben is számos utalást talál egyes kórokozók taxonómiai helyének változásaira.

Jelenleg, ahogy a nukleotid szekvencia meghatározása egyre egyszerűbbé válik, a rendszertani munkában nagy reményeket fűznek a faj több (általában minimum 7) háztartási, tehát meglehetősen konzervált gén szekvenciájának összehasonlításán alapuló meghatározásához, az ún. *multi locus szekvencia analízishez (MLSA)*, illetve hosszabb távon a *teljes genom szekvenciák* vizsgálatához.

Egyes fajok tagjait a kifejezett antigének, illetve biokémiai tulajdonságaik alapján tovább osztjuk *szero-, és/vagy biotípusokra*. Ennek gyakran van jelentősége a járványok követésében, sőt nemritkán az egyes szero-, és biotípusok eltérő kórokozó képességgel, járványtani tulajdonságokkal is rendelkeznek (lásd pl. a kolera kórokozóját vagy a salmonellákat).

A fajok elnevezése során a XVIII. századi svéd botanikus, Carl von Linne által kidolgozott *binominális elnevezést* használjuk, ahol az első név a genust (nem), a második a fajt (species) jelöli, pl. *Staphylococcus aureus*. A nevek megválasztására nincs szigorú szabály. Az első név utalhat a baktérium valamely tulajdonságára (Proteus – 'változékony' – az átváltozó képesség fortélyait ismerő görög isten neve után), alakjára (Bacillus – 'pálcika alakú'), vagy egy személyre (Escherichia – Theodor Escherich). A fajt jelölő elnevezésből szintén gyakran következtethetünk a mikroba valamilyen tulajdonságára (aureus – 'aranysárga' színű telepet képező), a gazdaállatra (suis – 'sertés'), a felfedezőre (flexneri – Simon Flexner) vagy az okozott kórképre (tetani – tetanusz). A teljes nevet aláhúzással jelezzük, vagy nyomtatásban *dőlt betűkkel* szedjük. Ha a szövegben egyszer már szerepelt teljes kiírással, ezt követően a faj nevét a genus kezdőbetűjének rövidítésével írjuk ki, pl. *S. flexneri*, vagy *Staphylococcus aureus* – *S. aureus*. A genus neve mindig nagybetűvel, a fajé mindig kicsivel kezdődik. Ezek, hasonlóan az esetlegesen külön névvel jelölt szerotípusok nevéhez, mindig egybe írandóak, még akkor is, ha ez a latin helyesírás szabályainak egyébként ellentmond, pl. a salmonellák esetén aTyphimurium, azaz az egerek tífuszát okozó salmonella szerotípus. A külön névvel jelölt szerotípus név egyébként normál nyomdai szedéssel és nagybetűvel írandó.

Számos mikrobának a mindennapi életben használatos, és a klinikusok által gyakran jobban elfogadott neve is van. Ilyen például a *Streptococcus penumoniae* helyett a pneumococcus, a *Neisseria gonorrheae* helyett a gonococcus, vagy a *Neisseria meningitidis* helyett a meningococcus elnevezés. Bár ezek az elnevezések nem felelnek meg a tudományos nevezéktan elveinek, a gyakorlatban általában kevés problémát jelentenek, sőt a rendszertani név után zárójelben megtaláljuk őket sok szakkönyv címszavai között is.

Az egy adott forrásból, egy adott alkalommal izolált, azonos fajú baktérium populációt *törzsnek* nevezzük Az izolálást végző személy joga a törzset a saját ízlése szerint valamilyen betű- és/vagy számkóddal ellátni (pl. LT2, M90T stb.). Ismételt átoltások vagy tárolás után is a törzs jelölését mindaddig megtartjuk, míg a törzset szándékosan meg nem változtattuk (pl. mutagenizáltuk), vagy benne valamilyen spontán változást nem észleltünk. Ilyenkor célszerű a megváltozott származékot index számmal/betűvel ellátni, pontosan nyilvántartva eredetét, „családfáját".

A *klón* egy eredetileg egyetlen sejtből származó baktériumpopuláció. Gyakorlatilag minden mikrobiológiai munkát klónokkal végzünk, hiszen így adódik a legtöbb esély arra, hogy – figyelembe véve a mikrobák nagyfokú változékonyságát – viszonylag homogén sejttömeggel dolgozzunk.

A prionok

Füzi Miklós

A *prionok* fehérje természetű kórokozók, amelyek egy embereket és számos állatfajt érintő degeneratív központi idegrendszeri betegségcsoport, a spongiform encephalopathiák (lásd 3.1. fejezet) kialakulásáért felelősek. Bár e kórképek régóta ismertek, a fertőzőképesség igazolása, valamint a kórokozó azonosítása hosszú ideig váratott magára. A betegségcsoport prototípusa a birkák *surlókórja, a scrapie*. Az 1980-as évek elején Stanley B. Prusiner amerikai kutató bizonyította be, hogy a spongiform encephalopathiák kórokozói fehérje természetűek, és megjelölésükre a *prion* elnevezést javasolta. Később ugyancsak az ő laboratóriuma igazolta, hogy az ágens egy, a központi idegrendszerben normálisan is megtalálható sejtfelszíni fehérje, a *celluláris prion protein (PrP^{C})* kóros konformációjú alakjának (*PrP^{Sc} – scrapie like prion protein*) felel meg. A PrP^{C} fiziológiás szerepe a központi idegrendszerben egyelőre nem teljesen tisztázott. Az eddigi kísérleti eredmények arra utalnak, hogy a memóriaképzésben, valamint az alvási ritmus fenntartásában lehet jelentősége.

Fiziológiás körülmények között a globuláris PrP^{C} protein döntően *α-helikális* konformációt ölt, de bizonyos külső behatásokra ez megváltozhat és a *b-lemez szerkezet* aránya a molekulán belül megnövekedhet. Ezek a már PrP^{Sc} molekulák összecsapódnak, aggregálódnak és egyes fehérjebontó enzimekkel szembeni rezisztenciájuk is megnövekszik. A módosult konformációjú, aggregálódott PrP^{Sc} amyloidként viselkedik: Kongó vörössel történt festést követően polarizált fényben kettős fénytörést mutat. Fiziko-kémiai tulajdonságai is jelentősen megváltoznak. Rendkívül ellenálló lesz hővel, savas pH-val, nem ionizáló detergensekkel, a fertőtlenítőszerek többségével és különböző sugárzásokkal szemben. Éppen ezért hatástalanítására speciális eljárásokat kell alkalmazni. A hővel történő sterilizálás kizárólag autoklávban végezhető, 134ºC, 1 atm, 30 percig. A szokásos fertőtlenítőszerek helyett a nátrium-hidroxid 1N töménységű oldata alkalmazható, legalább 1 órás behatással. Mindez jelentős gondot jelent az idegsebészeti műszerek sterilizálása kapcsán.

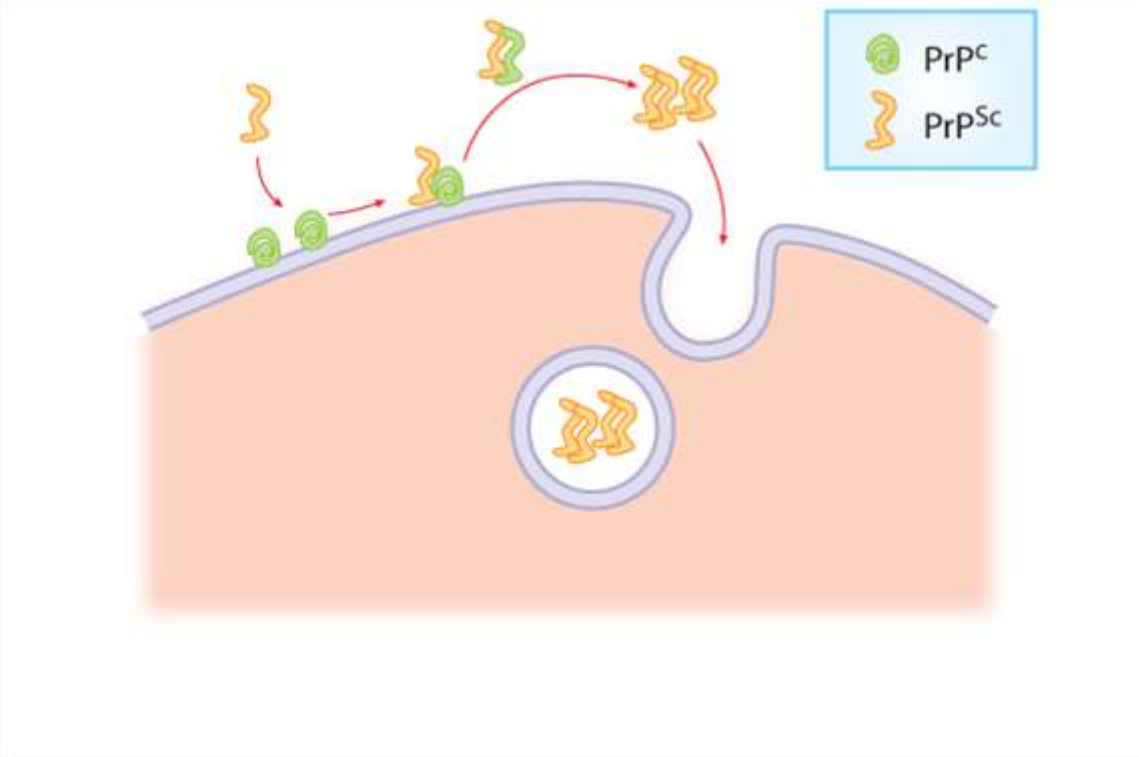
Ma már általánosan elfogadott, hogy a kóros konformációjú PrP^{Sc}*fertőző ágensnek,* patogénnek tekintendő. E sokáig hihetetlennek tartott feltételezés (ne felejtsük el, egy „egyszerű fehérjéről” van szó) elfogadását a következő bizonyítékok segítették:

a spongiform encephalopathiák – a vírus etiológiát kizárandó – kémiailag nukleinsav mentessé tett, tisztított, patológiás konformációjú PrP^{Sc}-t tartalmazó agykivonattal érzékeny állatra átvihetők,

PrP gént nem hordozó transzgenikus egereket nem lehet spongiform encephalopathiával megfertőzni,

in vitro szintetizált különböző PrP fragmentekkel a betegségekhez igen hasonló kórképeket lehet előidézni kísérleti állatokon.

A PrP^{Sc}*fehérje természetű kórokozóként* viselkedik: a fertőzés során kívülről a szervezetbe kerülve és a normál variánshoz kötődve megváltoztatja annak konformációját, azt is PrP^{Sc}-vé alakítva. Ezután az átalakult molekulák, mintegy lánc-reakcióként, újabb és újabb normál konformációjú molekulákhoz tapadnak, és így a kóros konformációjú PrP^{Sc} mennyisége az agyszövetben rohamosan növekszik **(2.1.2. ábra***)*. Feltételezik, hogy a klinikai tünetek kialakulását az így keletkező fehérjeaggregátumok neuronok általi felvétele, azokban való lerakódása idézi elő.



2.1.2. ábra. A prionfertőzések patogenezise

A *külső fertőzés* által létrejövő prion betegség mellett létezik a kórképeknek *genetikus eredetű formája* is. Amennyiben ugyanis a PrP génben olyan mutációk találhatók, amelyek a molekula másodlagos szerkezetét destabilizálják, a konformációváltozás spontán is bekövetkezhet. Az így kialakult genetikai eredetű betegség ugyanúgy fertőző, mint a külső infekcióval létrehozott kórkép.

A kórokozónak jól definiált törzsei különböztethetők meg, amelyek eltérő inkubációs idővel és egymástól némileg eltérő patológiai képpel okoznak betegséget. Feltételezik, hogy az egyes prion törzsek a PrP harmadlagos szerkezetében különböznek egymástól, és a PrP^{C}-t így saját képükre alakítják. A prion betegség gyakran átterjed (illetve átvihető) egyik fajról a másikra; a transzmissziós képességet azonban nagymértékben befolyásolják a fertőzést előidéző prion törzsek tulajdonságai. Egyes törzsek jobban, mások kevésbé hajlamosak az ilyen faji határokat nem tisztelő ugrásra. Amikor a kórokozó az egyik fajról egy másikra kerül át, az inkubációs idő valamennyi törzs esetében kezdetben hosszabb, majd az újabb, már az új fajon belüli átvitelek során fokozatosan rövidül és bizonyos idő után állandósul.

A vírusok – Általános virológia

A vírusok szerkezete

Beck Zoltán

A vírusok a legkisebb fertőző ágensek. A sejten kívüli fertőző vírusrészecskét *virionnak* nevezzük. A vírusok nem rendelkeznek olyan génekkel, melyek szükségesek lennének az energiatermeléshez vagy a fehérjeszintézishez. A vírusok (virionok) nem növekednek, nem osztódnak. A vírusok inert módon viselkednek az extracelluláris környezetben. Csak élő sejtekben képesek szaporodni, azok genetikai parazitái. A vírusok a nukleinsavuk által hordozott információ segítségével „átprogramozzák" a fertőzött gazdasejtet, és arra késztetik, hogy vírus-specifikus makromolekulákat szintetizáljon. Ezért a vírusokat úgy is definiálhatjuk, mint „*fertőző genetikai információ*".

A vírusok átmérője 20 nm-től 300 nm-ig terjed. A virion nukleinsavból – vagy DNS-ből, vagy RNS-ből (de sohasem mindkettőből) – és az azt körülvevő, védő szerepet is betöltő, fehérje természetű *kapszidból* épül fel. Néhány vírus egy további, lipoproteinekben dús membránnal, az úgynevezett *burokkal (peplon)* is rendelkezik.

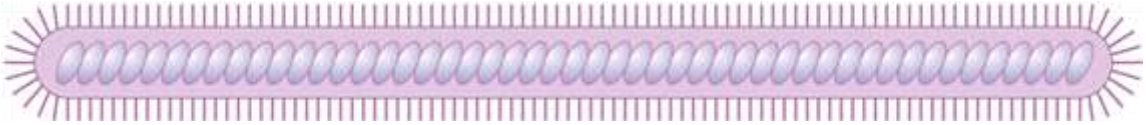
A virális genom

A vírus nukleinsava kódolja mindazt a genetikai információt, amely a vírus replikációjához szükséges. A genom lehet egyszálú és kétszálú, cirkulárisan zárt vagy lineáris, szegmentált vagy nem szegmentált. Csak a vírusok genomja tartalmaz egyszálú DNS-t vagy egyszálú, illetve kettős szálú RNS-t. Az egyszálú RNS-vírusoknak két csoportját különböztetjük meg. Az olyan RNS-vírusok, melyek genomja mRNS-molekulaként működik, az úgynevezett pozitív (vagy plusz) szálú RNS-vírusok csoportjába tartoznak. Ezeknek a pozitív szálú vírusoknak a genomi RNS-molekulái fertőzőképesek. A negatív (vagy mínusz) szálú RNS-vírusok nukleinsava nem képes az mRNS funkciót betölteni, ezért az ilyen vírusokból izolált RNS-molekulák önmagukban nem fertőzőképesek, a virionban mindig megtalálható mellettük a virális polimeráz.

Vírusfehérjék

A vírusokat felépítő (struktúr-) fehérjéknek több fontos szerepe is van. A legfőbb cél, hogy elősegítse a nukleinsav egyik sejtből a másikba történő bejutását. Ezt egyrészt a vírusgenom nukleázok által történő inaktiválásának megakadályozásával, másrészt a víruspartikulák fogékony sejtekhez történő kapcsolódásának elősegítésével éri el. A kapszidfehérje meghatározza a vírus antigenitását, és kialakítja a vírus partikulaszerkezetét, szimmetriáját. A nukleinsavat körülvevő fehérjeburkot, amely nem összetévesztendő a vírus lipoproteinburkával, *kapszidnak* nevezzük, mely *kapszomer alegységekből* épül fel. A kapszomerek elrendeződése alakítja ki a vírus szerkezetét és a geometriai szimmetriáját. Négy szimmetriaformát különböztetünk meg a vírus kapszidja alapján.

Helikális szimmetria. Ebben az esetben a kapszomerek egyenként épülnek össze a helikális formában hajlott vírusnukleinsavval úgy, hogy ez utóbbi mintegy a kapszomereken keresztül halad át. Az így felépült nukleokapszidszálból végső fokon egy csőszerű szerkezet jön létre, amelyben a szerkezeti egységek egy spirális vonal mentén (*hélix*) helyezkednek el **(2.1.3. ábra)**.

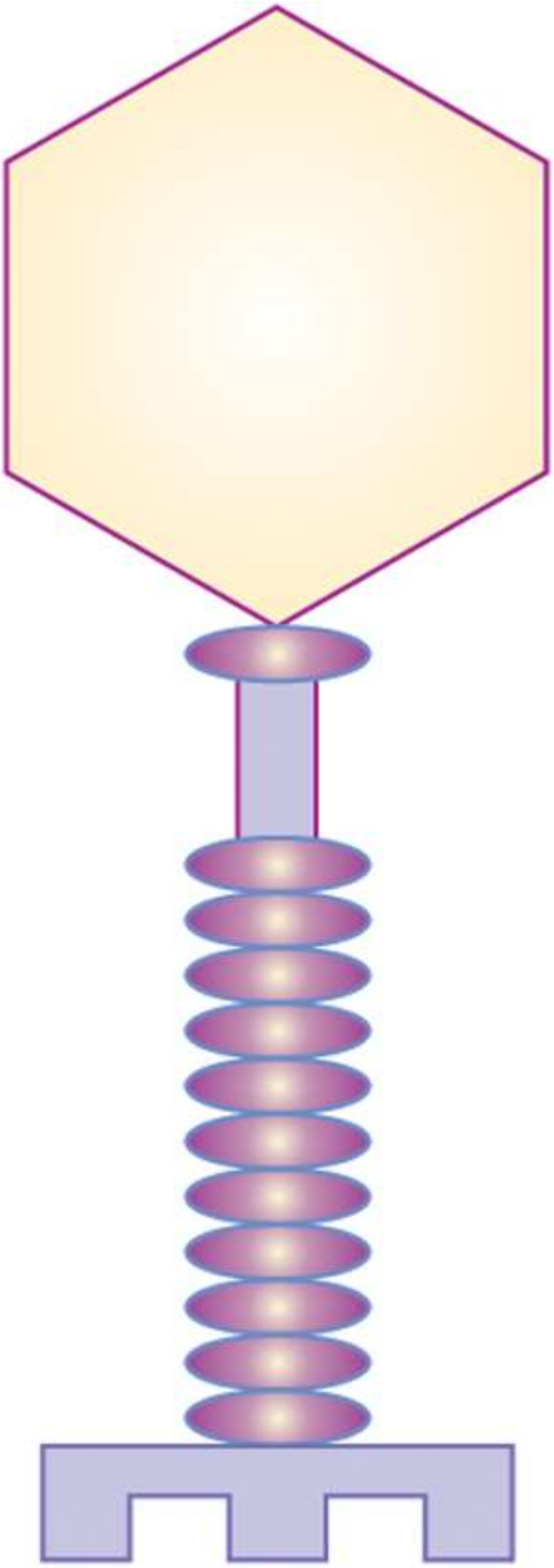


2.1.3. ábra. A filovírusok burokkal fedett helikális kapszid szerkezete

A hélix egyaránt lehet merev (rigid) vagy hajlékony (flexibilis). A rigid helikális szerkezet leginkább botformára, a flexibilis nukleokapszid gömbformára emlékeztet.

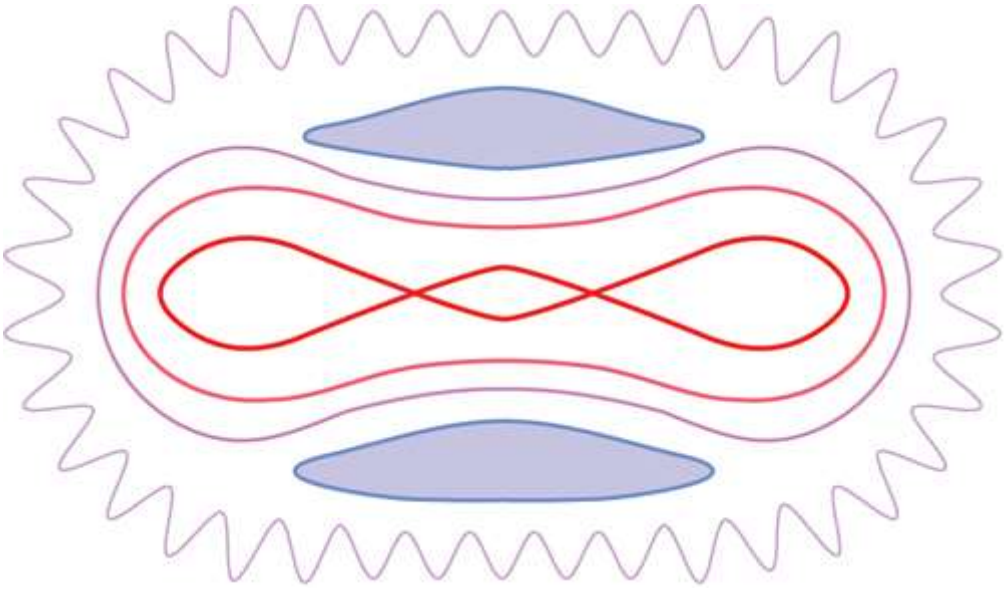
Kubikális (ikozahedrális) szimmetria. Ebben a szimmetriatípusban a kapszomerek ikozaédert képeznek, amely 20 egyforma oldalból (egyenlő oldalú háromszögből) és 12 csúcsból áll. Ezek a kapszidok is gömbölyűnek látszanak alacsony energiával készített elektronmikroszkópos felvételeken.

Bináris (kettős) szimmetria. Néhány bakteriofág rendelkezik ezzel a szimmetriával, amely mind az ikozahedrális (*fejrész*), mind a helikális (*farokrész*) szerkezetet hordozza **(2.1.4. ábra)**. A bináris fágok teljes nukleinsava a fejrészben található, a farokrész a gazdasejthez történő tapadásért felelős.



2.1.4. ábra. Bináris szimmetria

Összetett (komplex) szerkezet. A komplex vírusoknak összetett, többrétegű kapszidja van a nukleinsav körül. A poxvírusoknak tégla vagy ovoid alakú virionja van, jellemzőek a babapiskóta alakú nukleokapszid két oldalán elhelyezkedő *laterális testek*(**2.1.5. ábra**).



2.1.5. ábra. A poxvírusok összetett szimmetriája

Néhány vírus saját enzimmel is rendelkezik, ezek a virionon belül találhatók. Ezek az enzimek nagyon kis mennyiségben fordulnak elő, de nélkülözhetetlenek a vírus replikációs ciklusának elindításához, amikor a virion a gazdasejtbe jut. A negatív egyszálú vagy kétszálú RNS-vírusoknak *RNS-függő RNS-polimeráz* enzimjük van, amely szükséges az első mRNS kópia szintéziséhez. A *reverztranszkriptáz-aktivitással* rendelkező enzimek a retrovírusokra és a pararetrovírusokra jellemzőek. A reverztranszkriptázok DNS-t szintetizálnak RNS-templátról, ami az egyik kulcslépése ezen vírusok replikációjának. A poxvírusok „mag" (*core*) -régiója legalább 15 különböző enzimet tartalmaz, amelyek között található *DNS-függő RNS-polimeráz* írja át a virus genomiális DNS-ét RNS-sé.

Burok

A kapszidfehérjék mellett lehetnek egyéb proteinek is a virionban. Ezek a vírus burkához (a továbbiakban a „burok" elnevezést kizárólag a vírus lipoproteinburkára alkalmazzuk) kapcsolódva találhatók. A *burok (peplon)* lipoproteinekben gazdag membrán. A lipid komponense a lefűződés során a sejt valamelyik membránjából kerül a vírusra, a fehérje része vírusspecifikus. Gyakran *glikoprotein-„tüskék"* vannak a felszínen, melyek a gazdasejt receptoraihoz kötődnek a vírus gazdasejtbe történő belépése során. További fehérjék a *mátrix (vagy tegument) proteinek,* melyek elősegítik a kapszidfehérjék és a burok kapcsolódását. A burkos vírusok általában érzékenyebbek a hőre, detergensekre és lipidoldó szerekre, mint a burokkal nem rendelkező vírusok. A vírus felszíni fehérjéi, akár a kapszidfehérjék, akár a burok glikoproteinek fontos antigének, a gazdaszervezet immunválaszát váltják ki.

Az orvosi szempontból fontosabb vírusok osztályozása

A vírusok osztályozása a nukleinsav kémiai és morfológiai tulajdonságai, a szimmetria típusa, a burok megléte vagy hiánya, specifikus enzimek jelenléte és a replikáció típusa alapján

történik. (A replikációs stratégiákat a következő fejezetben tárgyaljuk.) A vírus szerkezetén alapuló osztályozási sémát a **2.1.1. és 2.1. 2. táblázatok** mutatják be.

2.1. táblázat - 2.1.1. táblázat. A DNS-vírusok osztályozása

CSALÁD	DNS SZERKEZET	KAPSZID SZIMMETRIA	BUROK
Parvoviridae	Ss, lineáris	Ikozahedrális	Nincs
Papillomaviridae	Ds, cirkuláris	Ikozahedrális	Nincs
Polyomaviridae	Ds, cirkuláris	Ikozahedrális	Nincs
Adenoviridae	Ds, lineáris	Ikozahedrális	Nincs
Hepadnaviridae	Ds, cirkuláris	Ikozahedrális	Van
Herpesviridae	Ds, lineáris	Ikozahedrális	Van
Poxviridae	Ds, lineáris	Komplex	Van

Rövidítések: Ss: egyszálú, Ds: kétszálú

2.2. táblázat - 2.1.2. táblázat. Az RNS-vírusok osztályozása

CSALÁD	RNS SZERKEZET	KAPSZID SZIMMETRIA	BUROK
Reoviridae	Ds, lineáris	Ikozahedrális	Nincs
Picornaviridae	Poz, Ss, lineáris	Ikozahedrális	Nincs
Caliciviridae	Poz, Ss, lineáris	Ikozahedrális	Nincs
Flaviviridae	Poz, Ss, lineáris	Ikozahedrális	Van
Togaviridae	Poz, Ss, lineáris	Ikozahedrális	Van
Coronaviridae	Poz, Ss, lineáris	Helikális	Van
Retroviridae	Poz, Ss, lineáris	Ikozahedrális	Van
Orthomyxoviridae	Neg, Ss, lineáris	Helikális	Van
Paramyxoviridae	Neg, Ss, lineáris	Helikális	Van
Rhabdoviridae	Neg, Ss, lineáris	Helikális	Van
Filoviridae	Neg, Ss, lineáris	Helikális	Van
Bunyaviridae	Neg, Ss, cirkuláris	Helikális	Van
Arenaviridae	Ss, cirkuláris, pleomorf	Helikális	Van

Rövidítések: Ss: egyszálú, Ds: kétszálú, Poz: pozitív szál, Neg: negatív szál

DNS vírusok

Parvovírusok. Nagyon kicsi (20 nm átmérőjű), burokkal nem rendelkező, ikozahedrális, egyszálú lineáris DNS-sel bíró vírusok.

Papillomavírusok. 55 nm átmérőjű, ikozahedrális vírusok dupla szálú cirkuláris DNS-sel. Burokkal nem rendelkeznek.

Polyomavírusok. Kicsi (40 nm), dupla szálú cirkuláris DNS-t tartalmazó, ikozahedrális szimmetriát mutató, burokkal nem rendelkező vírusok

Adenovírusok. Burokkal nem rendelkező, ikozahedrális vírusok. 80 nm átmérővel és dupla szálú lineáris DNS-sel bírnak

Hepadnavírusok. Kicsi (40nm) vírusok ikozahedrális kapsziddal, melyet burok vesz körbe. A kettős szálú DNS szerkezete szokatlan, a vírus jellegzetessége, hogy egy teljes negatív szálat és egy rövidebb, (átlagosan 25%-kal rövidebb) pozitív szálat tartalmaz. A vírus további érdekes tulajdonsága, hogy a teljes genom hosszúságú mRNS-ről reverz transzkripcióval replikálódik a DNS genom (*pararetrovírus*).

Herpesvírusok. Burkos vírusok. A 150–200 nm nagyságú vírusok dupla szálú lineáris DNS-sel, ikozahedrális kapsziddal és burokkal rendelkeznek. Az akut szak után életre szóló *látens fertőzéseket* okoznak.

Poxvírusok. A legnagyobb vírusok (200 x 400 nm). Duplaszálú lineáris DNS, komplex kapszid-szimmetria, különleges burok megléte jellemzi. A vírusok több saját enzimet is hordoznak a virionban, többek között a DNS-függő RNS polimerázt.

RNS-vírusok

Reovírus. Közepes méretű (70 nm) vírusok, melyek szegmentált dupla szálú RNS-t tartalmaznak ikozahedrális kapszidba zárva. Burokkal nem rendelkeznek.

Picornavírusok. A legkisebb (25 nm) RNS vírusok. Egyszálú, lineáris, nem szegmentált, pozitív RNS-t tartalmaznak a nem burkos ikozahedronban.

Calicivírusok. Kissé nagyobbak (35 nm), mint a picornavírusok. Ikozahedrális kapszidjuk nincs burokkal körülvéve. A genomot egyszálú, lineáris, nem szegmentált, pozitív polaritású RNS építi fel.

Flavivírusok. A virion egyszálú, lineáris, nem szegmentált, +polaritású RNS-sel rendelkezik. Burkos vírusok ikozahedrális kapsziddal. A burokkal együtt a virion mérete 50 nm.

Togavírusok. A virion egyszálú, lineáris, nem szegmentált, pozitív polaritású RNS-sel rendelkezik. Burkos vírusok ikozahedrális kapsziddal. A Flavivírusoknál kissé nagyobbak, 60–70 nm átmérőjűek.

Coronavírusok. A burok helikális kapszidot és egyszálú, lineáris, nem szegmentált polaritású RNS-t ölel körül. A burkos virion mérete mintegy 100 nm.

Retrovírusok. Ezek a burkos vírusok (100 nm) ikozahedrális kapszidszimmetriával rendelkeznek. A genom két kópiában található meg, egyszálú, lineáris, nem szegmentált, pozitív polaritású RNS formájában. A virion *reverz transzkriptáz* enzimet hordoz. A vírus RNS-genomja a gazdasejt genomjába beépült provirális DNS-ről (*provírus*) szintetizálódik.

Orthomyxovírusok. Burkos vírusok. Helikális kapszidjuk és 8 szegmentből álló egyszálú, lineáris, negatív polaritású RNS-ük van. 100 nm átmérőjűek.

Paramyxovírusok. Burkos vírusok helikális kapsziddal és egyszálú, lineáris, nem szegmentált, negatív polaritású RNS-sel. 150 nm méretűek.

Rhabdovírusok. Lövedék formájú, 70 x 180 nm nagyságú burkos vírusok. A helikális kapszid egyszálú, lineáris, nem szegmentált, negatív polaritású RNS-t tartalmaz. Nevük, alakjuk után a görögül pálcát jelentő „*rhabdos*" szóból származik.

Filovírusok. Ezek a burkos vírusok helikális kapsziddal bírnak. A genom egyszálú, lineáris, nem szegmentált, negatív polaritású RNS-ből épül fel. Hosszú filamentáris vírusok, melyek átmérője 80 nm körül, hossza pedig több száz nm körül mozog. A „filo" elnevezés alakjukra utal.

Bunyavírusok. A burok helikális kapszidot és 3 szegmentből álló egyszálú, cirkuláris, negatív RNS-t zár körül. A virion 100 nm nagyságú.

Arenavírusok. Burok, helikális kapszid, egyszálú, cirkuláris, 2 szegmentből álló, *ambiszensz RNS* jelenléte jellemzi. Az ambiszensz jelző azt jelenti, hogy a genomiális RNS egyrészt negatív, másrészt pozitív polaritással bír. Ezért saját polimert kell a fertőzött sejtbe juttatnia. A virion átmérője 120 nm körül mozog.

A vírusok szaporodása

Beck Zoltán

A vírusok csak élő sejtekben képesek szaporodni. A gazdasejt szolgáltatja az energiát, a kis molekulasúlyú prekurzorokat és a szintetizáló gépezetét a vírusfehérjék és nukleinsavak szintézise számára. A fertőzés kezdetén a vírus a fogékony sejtbe juttatja genetikai anyagát és – bizonyos vírusoknál – a szaporodáshoz szükséges enzim(ek)et. A vírusok által kódolt fehérjék részt vesznek a replikációban, a virion felépítésében és a fertőzött sejtek működésének megváltoztatásában. Bár a vírusoknak különböző stratégiái vannak a szaporodásuk megvalósítására, az alapvető folyamatok megegyeznek.

A szaporodási ciklus szakaszai

A vírusszaporodási folyamat 6 fő szakaszból áll. Ezek az *adszorpció, penetráció, dekapszidáció, szintetikus szakasz, összeépülés és kiszabadulás*.

Adszorpció. Ahhoz, hogy egy vírus bejuthasson a sejtbe, először sejtfelszíni receptorhoz kell kötődnie. A vírus kötődéséhez szükséges receptor jelenléte határozza meg leggyakrabban az adott vírus faj- és sejt-specificitását. A poliomyelitisvírus csak főemlősöket képes megfertőzni, mivel a kötődéséhez szükséges *Pvr-molekulát* más állatok sejtjei nem hordozzák. A veszettség (lyssa, rabies) vírusának receptora a *nikotinerg acetilkolin receptor*. A sejtspecificitást determináló receptor is lehet általánosan elterjedt vagy speciális molekula. Előbbire az influenzavírusok által használt *sziálsav* lehet példa. Specifikus molekula a humán immunodeficiencia-vírus (HIV) receptoraként szolgáló *CD4 receptor* vagy az Epstein–Barr-vírus (EBV) kötődéséhez szükséges *CD21 (CR2) komplementreceptor*. Érdekességként megemlíthető, hogy egyes bacteriophagok s*zexfimbriákhoz* kötődnek a baktérium felszínén.

Vannak olyan, burokkal rendelkező vírusok, melyek a *főreceptoron* kívül még *koreceptort* is igényelnek. Ilyen szerepet töltenek be egyes *kemokin-receptorok*, melyeket a HIV használ koreceptorként. A koreceptorok a virion burka és a gazdasejt citoplazmamembránja között létrejövő fúzióhoz szükségesek.

Penetráció. A penetráció mechanizmusának 3 fő típusa különböztethető meg. A penetráció „leglátványosabban" a babacteriophagok esetében zajlik. Itt a *kapszid kontrakciója* „fecskendezi be" a baktériumba a vírus nukleinsavát. A virion többi komponense a sejten kívül marad. A növényi vírusok nem rendelkeznek a penetrációt elősegítő mechanizmusokkal. A fertőzés általában ízeltlábú vektorok által történő *közvetlen beoltás, ritkábban mechanikus sérülések* útján jön létre. Az állati vírusokat a gazdasejt penetrációt elősegítő mechanizmusai juttatják be a sejtbe. Az állati vírusok bejutása a gazdasejtbe *membránfúzióval vagy endocitózissal* történhet.

Membránfúzióra csak burokkal rendelkező vírusok képesek. Ilyen penetrációs mechanizmus jellemző a paramyxo-, retro- és herpesvírusokra. A fúzió a virion lipidburka és a sejt plazmamembránja között megy végbe. A lipidrétegek összeolvadásának eredményeként a virion burka eltűnik, és csak az így felszabaduló nukleokapszid jut be a virionból a sejtbe. A HIV penetrációjában elengedhetetlenül fontos szerepe van a koreceptoroknak. A vírus felszíni antigénje egy 160 kDa molekulatömegű glikoprotein, mely két részből (gp120 és gp41) áll. A gp120 először a CD4 molekulához kötődik. Az ennek következtében létrejövő konformációváltozás teszi lehetővé, hogy a gp120 a koreceptorhoz is hozzákötődjön. Ezáltal egy további konformációváltozás következik be, mely a gp41 és egy sejtfelszíni fúziós protein közötti kötődés előfeltétele. A paramyxovírusoknál a hemagglutinin-neuraminidáz (HN) antigének kötődése hoz létre olyan konformációváltozást, amely lehetővé teszi, hogy a fúziós (F) vírusfehérje is kötődhessen sejtfelszíni receptorához.

A burokkal rendelkező vírusok másik csoportja és a burok nélküli vírusok *endocitózissal* jutnak be a sejtekbe. A burokkal nem rendelkező vírusok számára ez az egyetlen lehetőség a penetrációra. Az endocitózis során egy betüremkedés jön létre a citoplazma membránban, amely a viriont magába zárja, és lefűződését követően bejuttatja a sejtbe. Az *endocitotikus vezikulumból* a vírusok a pH-csökkenés hatására szabadulnak ki. A burokkal rendelkező vírusok esetében ezt egy membránfúziós folyamat teszi lehetővé, mely a virion burka és a vezikulum fala között megy végbe. Az influenzavírusoknál a fúziós folyamat eredményeként felszabadul a virion nukleokapszidja. A burokkal rendelkező vírusok penetrációja során tehát minden esetben lezajlik egy fúziós folyamat a vírus burkának részvételével, de ez – a bejutás mechanizmusától függően – extra- vagy intracellulárisan megy végbe. A burok nélküli vírusok esetében az alacsony pH olyan felszíni vírusfehérjéket aktivál, melyek – az aktiválást követően – képessé válnak az endoszómális membrán lebontására.

Dekapszidáció. Rendkívül találó a folyamat angol neve (*uncoating*), mivel ebben a szakaszban valóban a nukleinsav „levetkőztetése" történik meg. Az uncoating a dekapszidáció elnevezéssel ellentétben azt a lehetőséget is nyitva hagyja, hogy a kapszid eltávolítása esetleg csak részlegesen történik meg. A dekapszidáció a replikációs ciklus bármely korábbi szakaszában, sőt az adszorpciót megelőzően is megkezdődhet. Részben ezzel függ össze az a sajátosság, hogy a dekapszidáció szubcelluláris lokalizációja is többféle lehet. A reovírusok részleges dekapszidációja már az adszorpció előtt megtörténik, mivel a bélben található proteázok teszik a viriont fertőzőképessé. Hasonló a helyzet az enterovírusoknál, melyeknél a VP4 kapszidfehérje eltávolítása fokozza a virion infektivitását. Az endoszomális vezikulumokban végbemenő dekapszidációban fontos szerepe van a kapszid és a burok között

elhelyezkedő matrix fehérjék által létrehozott protongradiensnek. A DNS-vírusok kapszidjának eltávolítása a maghártya pórusainál történik meg. *Teljes mértékű a dekapszidáció* a DNS-vírusok mindegyikénél, és egyes RNS-vírusok (picorna-, toga-, flavi- és coronavírusok) esetében. *Részleges dekapszidáció* jellemző az RNS-vírusok többségére. A részleges dekapszidáció jelentősége abban van, hogy egyes kapszidfehérjék stabilizálják a templátként szolgáló genomiális RNS-t, míg mások a replikációban elengedhetetlenül szükséges enzimek.

Szintetikus szakasz. Ebben a szakaszban történik meg az új virionokat felépítő nukleinsavak és fehérjék szintézise. Eddig a replikációs ciklus egyes szakaszai elektronmikroszkóppal jól követhetők, a dekapszidáció befejezésével azonban a virion „eltűnik". Erre utal a szintetikus szakasz görög eredetű neve, az *eclipsis (elhomályosodás)*. A szintetikus szakasz időben két fő részre, *korai (early) és késői (late) fázisra* osztható. A kettő között a nukleinsav-szintézis képez határt. A nukleinsav-replikációt megelőzően zajlik a korai transzkripció és korai transzláció, a genomiális nukleinsav szintézisét pedig a késői transzkripció és késői transzláció követi. A *korai fehérjék* részben a nukleinsav-szintézishez szükséges polimerázok és egyéb fehérjék, részben regulátor proteinek. A regulátor fehérjék több fontos funkciót látnak el: transzaktiválják a késői fehérjéket kódoló gének promotereit, szabályozzák a vírusspecifikus mRNS-ek extranukleáris transzportját, és átprogramozzák a gazdasejt nukleinsav- és fehérjeszintézisét. A *késői fehérjék* a virionokat felépítő struktúr-proteinek. A nagyobb és több gént tartalmazó vírusok, így a herpesvírusok esetében a szintetikus szakasz összetettebb, és három fázisa különíthető el: nagyon korai (immediate-early), korai és késői. A vírusgenom jellege határozza meg a genomiális nukleinsav és mRNS szintézisének mechanizmusát, melyet a vírusok replikációs stratégiájának nevezünk. Ezt a következő alfejezetben tárgyaljuk.

Összeépülés. A virionok összeépülésének időtartama rendkívül különböző. A kisebb, egyszerűbb felépítésű vírusok összeszerelődése általában gyorsabban történik, mint a nagyobb, bonyolultabb szerkezetű virionoké. Az ikozahedrális kapszid önállóan is összeépül, míg a helikális szerkezet kialakulásához a nukleinsav és a kapszomerek együttes jelenléte szükséges. Ez a helikális struktúra sajátosságaiból adódik. A vírusfehérjék összeillesztését, „hajtogatását" *virális és celluláris chaperonok* végzik. Általában vírusfehérjék biztosítják a nukleinsav bejutását az ikozahedrális kapszidba. Ezt *bepakolásnak (packaging)* nevezzük. A burokkal rendelkező vírusok különböző celluláris membránokon szerzik meg a burkot. Ez történhet a citoplazma membránon (orthomyxo-, paramyxo-, rhabdo-, retro- és togavírusok), az endoplazmatikus retikulumban és/vagy Golgi-apparátusban (corona-, bunya- és hepadnavírusok), vagy a maghártyán (herpesvírusok). Sokáig egymás szinonimáiként használták az összeépülés (assembly) és maturáció (maturation) kifejezéseket. Ez alapvetően helytelen. A *maturáció* az a folyamat, melynek során a *prekurzor vírusfehérjék* átalakítása történik meg. A prekurzorok olyan poliproteinek, melyeket vírusspecifikus vagy celluláris proteázok hasítanak kisebb egységekre. Ezáltal válnak az éretlen, nem infektív virionok érett, fertőzőképes víruspartikulákká. A poliomyelitisvírus prekurzor kapszidfehérjéjének hasítása a citoplazmában, a retrovírusok kapszidprekurzorának vágása a sejtből történő távozás során, míg az influenzavírusok hemagglutininjének átalakítása az extracelluláris térben történik. Ezek alapján érthető, hogy a maturáció időben nem különíthető el az összeépülés és kiszabadulás szakaszától.

Kiszabadulás. A bakteriális sejtfalon „átbújni" lehetetlen, ezért a bacteriophagok *lízissel* jutnak ki a baktériumból. Elektronmikroszkópos felvételen jól látható, hogy a vírussal fertőzött baktériumok egy adott pillanatban szinte „felrobbannak". Az állati vírusok, és ezen

belül a humán vírusok számára fokozatos ürülést is lehetővé tesz a sejtfal hiánya. Ezek a vírusok három különböző módon távozhatnak a sejtből. A burok nélküli vírusok és a peplonnal rendelkező vírusok közül a poxvírusok a *sejt lízise* során kerülnek ki az extracelluláris térbe. A burokkal rendelkező vírusok nagy többsége *lefűződéssel (budding)* távozik a sejtből. E vírusok között vannak erősen citolitikusak (paramyxo-, rhabdo-és togavírusok) és litikus hatást nem okozók (retrovírusok) is. A sejtből való kijutás harmadik lehetőségét a herpesvírusok képviselik. Ezek a citoplazmában képződő vezikulumokba zárva érik el a sejthártyát, ahol a vezikulum és citoplazmamembrán fúziója után a virion *exocitózissal* jut ki a sejtből. A teljesség kedvéért meg kell jegyezni, hogy exocitózisra a poxvírusok is képesek lehetnek. A növényi vírusok sejtről sejtre való terjedése intercelluláris plazmahidakon át történik.

A vírusok replikációs stratégiája

A vírusok replikációs stratégiáját alapvetően a genom jellege szabja meg. A genomiális nukleinsav és az mRNS-szintézis eltérő típusainak megértéséhez még a gazdasejt két jellemzőjét kell figyelembe venni. A gazdasejt nem rendelkezik olyan enzimekkel, melyek az RNS-vírus-genomról mRNS-t tudnának átírni, vagy a DNS-vírus-genomot a citoplazmában mRNS-re fordítanák át. Szintén fontos körülmény, hogy az eukaryota sejt általában a monocisztronos üzenetek leolvasására képes. Ezért a vírusoknak vagy minden vírusgénről külön mRNS-t kell szintetizálniuk, vagy az mRNS több gén átírásából keletkezik, és így prekurzor poliproteinek jönnek létre, melyeket később több részre kell vágni. A replikációs stratégia határozza meg az eukariota sejtekben a vírusszaporodás szubcelluláris lokalizációját. Vannak a sejtmagban, a citoplazmában, valamint a sejtmagban és citoplazmában szaporodó vírusok. Mivel a prokarióta sejtek magállománya és citoplazmája nem különül el egymástól, a bacteriophagok szaporodásánál nem beszélhetünk szubcelluláris lokalizációról.

DNS-vírusok

A DNS-vírusok replikációs stratégiájának 4 típusát különböztetjük meg.

Egyszálú DNS-vírusok. Ebbe a csoportba tartoznak a parvovírusok. A parvovírusok kicsiny genomja nem kódolja a DNS szintéziséhez szükséges enzimeket, replikációjukhoz celluláris DNS-polimerázokat igényelnek. Ebből következik, hogy a parvovírusok replikációja csak szaporodó sejtekben lehetséges, mivel a gazdasejt DNS-szintetizáló rendszere csak az S fázisban működik. A DNS replikációja során átmenetileg kétszálú DNS-intermedier keletkezik, és ebből válik le a genomiális egyszálú DNS. Az újonnan szintetizált virionokba vagy pozitív, vagy negatív egyszálú DNS épül be. A kétféle virion aránya a különböző parvovírusoknál nagyon eltérő. A genomban foglalt információ mRNSre történő átírását a gazdasejt RNS-polimeráz II. enzime végzi. A parvovírusok a sejtmagban épülnek össze.

Kétszálú DNS-vírusok többsége. Ebbe a csoportba sorolható a pox- és pararetrovírusok kivételével az összes többi kétszálú DNS-vírus. Ezek a vírusok nyugvó sejteket megfertőzve is képesek szaporodni; vagy azért, mert korai fehérjéikkel a sejteket az S fázisba juttatják (adeno-, papilloma-és polyomavírusok), vagy azért, mert képesek a DNS-szintézishez szükséges teljes enzimkészlet és más fehérjék szintézisét kódolni (herpesvírusok). Az mRNS szintézisét a celluláris RNS-polimeráz II. enzim végzi.

Pararetrovírusok. A pararetrovírusok közé tartoznak a Hepadnaviridae család tagjai. A hepadnavírusok jól ismert reprezentánsa a humán hepatitis B vírus (HBV). A pararetrovírusok

genomja részlegesen kétszálú DNS, a hepadnavírusoknál a pozitív szál inkomplett. A replikációs ciklus sajátos vonása az, hogy a DNS-genom szintézise RNS-intermedierről történik reverztranszkripcióval. A pararetrovírusok nukleinsav-polimeráz enzime DNS-polimerázként és reverztranszkriptázként is képes működni. Az adszorpció után a dekapszidációt követően a részben kétszálú DNS a sejtmagban a virális nukleinsav-polimeráz és a gazdasejt DNS-szintetizáló enzimjeinek közreműködésével kiegészül. A kétszálú DNS-templátról a gazdasejt RNS-polimeráz II. enzimje RNS-molekulákat szintetizál. A különböző mRNSek mellett egy olyan RNS is átíródik, mely a teljes genomot lefedi. Ez az ún. *pregenomiális RNS vagy pregenom.* A pregenomiális RNS az újonnan szintetizálódott kapszidba kerül, ahol róla a reverztranszkriptázként működő nukleinsavpolimeráz DNS-t szintetizál. Ezt követően az endoplazmatikus retikulumban a virion burka is kialakul. A pararetrovírusok replikációja tehát a sejtmagban kezdődik, a genomiális DNS szintézise és a virion összeépülése viszont a citoplazmában történik meg.

Poxvírusok. A Poxviridae család tagjai olyan, kétszálú DNS-genommal rendelkező vírusok, melyek a nukleinsavreplikációhoz és transzkripcióhoz szükséges összes fehérjét kódolni képesek, ezért szaporodásuk minden lépése a sejtek citoplazmájában megy végbe.

RNS-vírusok

Az RNS-vírusok genomja változatosabb felépítésű, mint a DNS-vírusoké, ezért replikációs stratégiájuknak is több típusa van. Egyes szerzők szerint az RNS-vírusok ebből a szempontból 8 csoportba sorolhatók. Ha a pozitív és negatív egyszálú RNS-t tartalmazó vírusok csoportjain belüli különbségeket nem tekintjük fő szempontnak, akkor a replikációs stratégia 6 típusa lehetséges. Mi ezt az utóbbi felosztást követjük.

Pozitív egyszálú RNS-vírusok. A pozitív polaritású genomiális RNS mRNS-ként is képes funkcionálni. A (+) virális RNS-ről a gazdasejt riboszómái szintetizálnak fehérjét. Az mRNS jellege alapján a pozitív egyszálú RNS-vírusok replikációjának két altípusát különböztetjük meg. Ha a vírus egyetlen, a genommal megegyező méretű mRNS-t kódol (picorna- és flavivírusok), akkor a transzláció terméke egy olyan poliprotein, melyet később fel kell szabdalni. A több mRNS-t kódoló vírusoknál (toga-, corona- és calicivírusok) a korai transzláció terméke egy RNS-dependens RNS-polimeráz, a struktúrfehérjék csak később jelennek meg a fertőzött sejtben. A pozitív egyszálú RNS-vírusok mindegyikére érvényes, hogy a vírusgenom által kódolt RNS-dependens RNS-polimeráz a fertőzött sejtekben de novo szintetizálódik, és nem struktúrkomponense a virionnak. Ez az enzim (–) RNS-intermedieren keresztül szintetizálja a vírusspecifikus (+) RNS-t. A nukleinsav-szintézis során egy kétszálú replikatív intermedier RNS jön létre, melyről a negatív szál később leemésztődik. A pozitív egyszálú RNS-vírusok a citoplazmában szaporodnak.

Negatív egyszálú RNS-vírusok. Az mRNS-sel komplementer negatív egyszálú RNS-t a gazdasejt nem tudja mRNS-ként elfogadni, sem pozitív RNS-re átírni, csak a virionban jelenlévő vírus-specifikus RNS-dependens RNSpolimeráz enzim, mely bejut a gazdasejtbe a fertőzés során. Ez az enzim írja át a genomiális RNS-t mRNS-re, majd a replikáció egy későbbi fázisában nukleinsav-polimerázként működik. A kettős funkció ellátását az teszi lehetővé, hogy a virális RNS-polimeráz több alegységből áll, és a különböző alegységek változóan játszanak szerepet a transzkripcióban és nukleinsav-replikációban. Az influenzavírusok RNS-polimeráz enzimje például három alegységből áll. Az orthomyxo- és bunyavírusok nem képesek az mRNS 5’ végén lévő 8–18 nukleotidot szintetizálni, hanem ezeket a gazdasejt mRNS-ről „lopják el”. Míg a bunyavírusok a citoplazmában lévő mRNS-

molekulákat is képesek erre a célra használni, addig az orthomyxovírusoknak az újonnan szintetizált mRNS-re van szükségük. Ezért az orthomyxovírusok szaporodási ciklusának több szakasza (transzkripció, nukleinsav-replikáció és részben a nukleokapszid összeépülése) a sejtmagban megy végbe. Az összes többi negatív egyszálú RNS-vírus replikációjának minden szakasza a citoplazmában zajlik.

Ambiszensz RNS-vírusok. Részben pozitív, részben negatív (*ambiszensz*) egyszálú RNS-ből áll az arenavírusok és egyes bunyavírusok genomja. A genomnál kisebb méretű mRNS transzkripcióját egy virion polimeráz végzi, az ebből származó polimeráz pedig a teljes méretű genomiális RNS szintéziséért felelős. Ezeknél a vírusoknál tehát két RNS-dependens RNS-polimeráz játszik szerepet a replikációban. A virion struktúrkomponenseként jelen levő enzim az mRNS szintézisét végzi (transzkriptáz), míg a másik de novo szintetizált enzim replikáz (nukleinsav-polimeráz) funkciót lát el. Az ambiszensz RNS-vírusok a fertőzött sejtek citoplazmájában szaporodnak.

Kétszálú RNS-vírusok. Ebbe a csoportba tartoznak – többek között – a reovírusok. Mivel a kétszálú RNS sem szerepelhet mRNS-ként, ezeknek a vírusoknak is rendelkezniük kell preformált RNS-dependens RNS-polimerázzal, mely az RNS negatív száláról szintetizálja az mRNS-t. A reovírusoknál a transzkripció eredményeként RNS-ek egyben templátként szolgálnak a kétszálú RNS-genom szintézisében. Az mRNS és genomiális RNS szintézisét valószínűleg ugyanaz az enzim végzi. A kétszálú RNS-vírusok az eukaryota sejtek citoplazmájában szaporodnak.

Retrovírusok. A retrovírusok genomja pozitív egyszálú RNS, de replikációs stratégiájuk egészen speciális. Ez azzal függ össze, hogy a virion három enzimet (reverztranszkriptáz, integráz és proteáz) tartalmaz. A dekapszidációt követően a genomiális RNS-t a reverztranszkriptáz írja át DNS-re a citoplazmában. Az RNS-genom DNS-kópiáját *provirális DNS-nek vagy provírusnak* nevezzük, melyet az integráz épít be a gazdasejt genomjába. A provirális DNSről a genomiális RNS-t és az mRNS-eket a celluláris RNSpolimeráz II. írja át a sejtmagban. A vírusfehérjék szintézise és a nukleokapszid összeépülése a citoplazmában történik, majd a virion a sejtből történő lefűződés során szerzi meg a burkot. A proteáz enzimnek a maturációban van szerepe. Ez az enzim vágja fel a prekurzor kapszid poliproteint kisebb egységekre. A reverztranszkripció fontos jellemzője, hogy eredményeként a genomiális RNS terminális szekvenciái megduplázódnak. Ezeket a szekvenciákat tartalmazó régió neve *long terminal repeat (LTR).*

Hepatitis D (delta) vírus. A hepatitis D vírus (HDV) több szempontból is különleges. Genomja cirkuláris negatív egyszálú RNS, mely egyetlen kapszidfehérjét kódol. Önmagában a HDV nem fertőzőképes, csak akkor keletkezik infektív partikula, ha a HDV a hepatitis B vírussal (HBV) együtt ugyanabban a sejtben szaporodik. Az infektivitáshoz szükséges felszíni antigént a HBV termeli a HDV számára. Ezt a kapcsolatot úgy jellemezhetjük, hogy a HDV defektív vírus, melynek *helper (segítő) vírusa* a HBV. Még különösebb az, hogy a HDV-genomot a celluláris RNS-polimeráz II. enzim szintetizálja. Ez a sajátosság arra utal, hogy a HDV a növényeket megbetegítő viroidokkal és viruszoidokkal rokon. Egyelőre rejtély, hogy a DNS transzkripciójára „szakosodott" RNS-polimeráz II. enzimet hogyan tudják „rávenni" ezek a szubvirális fertőző ágensek az RNS szaporítására.

A vírusok genetikája

Kónya József

A vírusokra is érvényesek az alapvető genetikai törvényszerűségek, mivel a vírusok tulajdonságait nukleinsav genom kódolja. A vírusok *genetikai változékonyságát* az alábbi tényezők határozzák meg:

A virális genom *replikációjának pontatlansága* eltérő a vírusok különböző csoportjai között. A legtöbb *DNS vírus* replikációját a gazdasejt DNS-polimerázai végzik, amelyek nagy pontossággal másolnak, ami stabil antigénszerkezetet és vírustörzseket eredményez. Az *RNS genom* replikációját azonban a vírus által kódolt polimerázok végzik (a hepatitis D vírus kivételével). A virális polimerázoknak nincs *visszaellenőrző (proof-reading)* képessége, ezért pontatlanul dolgoznak, az amúgy is nagyszámban képződő új vírusgenom-kópia között sok lesz a mutáns genom. Szintén pontatlan a HIV- és hepatitis B vírusokra jellemző reverz transzkripción alapuló genom replikáció.

Az adott vírus fenotípusos változatosságát fokozza a gazdaszervezet immunvédekezése miatt kialakult *szelekciós nyomás***.** Az immunrendszer a vírusfertőzéseket leghatékonyabban az adszorpciós szakaszban tudja gátolni a vírus felszínén elhelyezkedő receptorokat felismerő ellenanyagokkal, amelyeket *neutralizáló (értsd: fertőzést semlegesítő)* ellenanyagoknak neveznek. Amennyiben a vírus felszínén elhelyezkedő receptornak számos *szerotípusa* (antigén variánsa) van, akkor a fertőzést követően csak az adott szerotípussal szemben alakul ki védelem, a többivel szemben nem, vagy csak részlegesen lesz védett a gazdaszervezet. A részleges védettség ilyen esetekben az egyéb, nem változékony vírusfehérjékkel szemben kialakult, komplement mediált és celluláris immunmechanizmusoknak köszönhető.

A fenotípusos változatosságnak határt szab a *funkcionalitás*, azaz a szaporodó- és fertőzőképesség megőrzése. Ezért még a változékony vírusokban is vannak konzervatív nukleinsav-szekvenciák. Sok vírusnak vannak olyan nukleinsav szakaszai, amelyek több gén átfedő részére esnek úgy, hogy sokszor a bázishármasok leolvasó kerete sem ugyanaz az átfedő génekben. Ezeken a szakaszokon bekövetkező egyedi nukleotid mutációk több gén funkcionalitását is érinthetik.

Adaptív genetikai változást eredményezhet az antivirális terápiára kialakuló rezisztencia, amikor a terápiás célpontként szolgáló vírusfehérje megváltozik. A gyorsan kifejlődő antivirális rezisztenciára példa az influenza- és a HIV-vírus. Az adaptációt célzottan, mesterségesen is létrehozhatjuk az adott vírust mindig ugyanolyan körülmények között mesterségesen szaporítva. Az adaptáció során csökkenhet a vírus virulenciája, aminek antivirális vakcinák kifejlesztésében lehet szerepe.

Mind a DNS, mind az RNS vírusok között előfordulnak nagyszámú szero-, és genotípussal rendelkező fajok. A stabil DNS vírusokban (pl. humán papillomavírusok) ez a genetikai változatosság az emberiség evolúciójával szinkronban alakult ki, és a jelenleg előforduló genotípusok stabilak, jól definiálhatóak. Ezzel szemben az olyan RNS vírusoknál, mint az enterovírusok, rotavírus, influenzavírus, HIV, az antigénváltozás dinamikája gyors, akár évről évre jelentkezhetnek újabb variánsok, amelyek részlegesen vagy teljesen megváltozott sejtfelszíni antigénnel rendelkeznek. Azt a részleges antigén-változáson átesett variánst, amelyiket gyengébben, de még felismernek a szülői törzsre specifikus ellenanyagok, de már szülőitől eltérő, újabb epitópok is jellemeznek, „*quasispeciesnek”* nevezik. A quasispeciesek azonosításának járványügyi és prevenciós jelentősége van.

Genetikai interakciók vírusok között

Két különböző vírusgenom között a genetikai anyag kicserélődés csak gazdasejtben történhet meg. Ritka esemény, hogy ugyanazt a sejtet az adott vírusnak két különböző törzse fertőzi meg, és még ritkább, hogy két különböző vírus fertőzze ugyanazt a sejtet. A kettősszálú DNS vírusok között létrejöhet *homológ rekombináció*, míg az egyéb vírusok között nem. A szegmentált RNS genomban (influenza A vírus, rotavírus) *reasszortáció* következhet be, ami a szülői genomszegmensek kombinációinak véletlenszerű becsomagolódását jelenti az újonnan képződő virionokba. Ha a reasszortáció egy emberi és egy állati vírustörzs között jön létre, akkor, ugrásszerűen (*antigen shift*) alakulhat ki egy olyan új variáns, amelyikkel szemben az emberi populáció védtelen.

Génterápiás vírusvektorok

A virionok ideális struktúrák nukleinsav-szekvenciák sejtbe juttatására és expressziójára, hiszen az evolúció során erre specializálódtak. Ígéretes rendszereket dolgoztak ki módosított adenovírusokkal, vaccinia vírussal és retrovírusokkal. Ezen vírusoknak a genomja elég nagy ahhoz, hogy egyes virális géneket kicseréljék a bejuttatni kívánt génnel vagy cDNS-sel. A kiiktatott vírusgének miatt az adenovírus és retrovírus vektorok defektívek lesznek, az emberi szervezetben a vektor nem szaporodik és nem jelent infekciós veszélyt a gazdaszervezetre és környezetére. A vaccinia vírus citolítikus vírus, alkalmazása leginkább immunizálásra képzelhető el. A replikáció-defektív adenovírus már hosszabban fennmarad a sejtben és kifejezi a bejuttatott fehérjét, azonban nem követi a sejtosztódást, ami miatt az adenovírus vektort hordozó sejtek fokozatosan eltűnnek a szervezetből. A retrovírus vektorok integrálódnak a gazdasejt kromoszómájába, aminek előnye és hátránya is van. Előny, hogy az erős retrovírus promoter (LTR) hatására a bevitt gén tartósan kifejeződik. Nagy hátrány viszont, hogy a beépült retrovírus (provirus) mindkét végén található LTR közül a 3' pozícióban lévő a szomszédos humán géneket aktiválja. Ha véletlenül onkogének mellé épül be, akkor rosszindulatú daganatot okoz a retrovírus vektor, ezért alkalmazása csak letális genetikai defektusok kezelésére képzelhető el. Minden vírusvektornak hátránya, hogy maga a vektor is immunogén, ezért egy gazdaszervezetben valószínűleg csak egyszer lehet alkalmazni egy-egy vektortípust.

A baktériumok – Általános bakteriológia

Pál Tibor

A baktériumsejt alakja és alkotórészei

A baktériumok, hasonlóan az archeákhoz, *prokaryoták,* azaz a sejtmaghártya hiánya miatt nem rendelkeznek valódi sejtmaggal. A pro-, és eukaryota sejtek között az elnevezés alapjául szolgáló különbség mellett azonban számos más eltérés is található, melyek közül a legfontosabbakat (a baktériumokra vonatkozóan) a **2.1.3. táblázat** foglalja össze.

2.3. táblázat - 2.1.3. táblázat. A prokaryota baktériumok és az eukaryota sejtek összehasonlítása

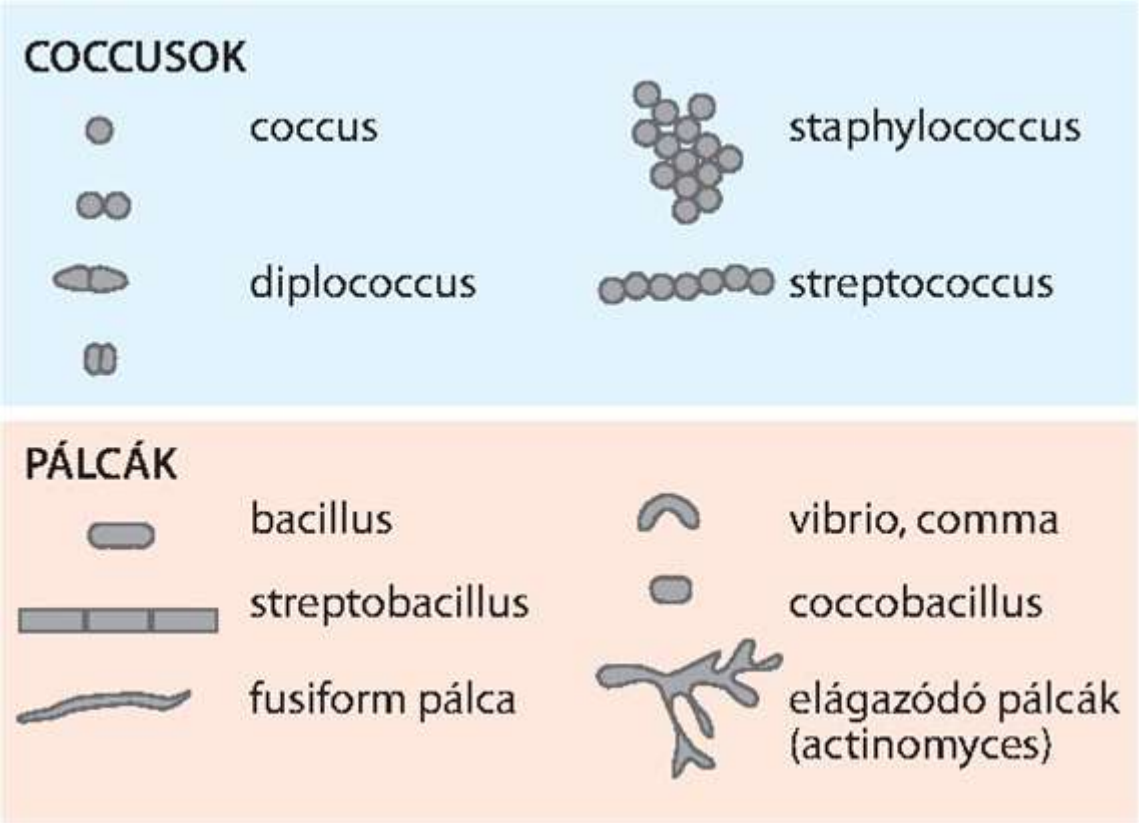
TULADONSÁG	PROKARYOTA (Baktérium)	EUKARYOTA

Sejtmag membrán	Nincs (Nincs valódi sejtmag)	Van (valódi sejtmag)
Sejtmagvacska	nincs	van
Sejt membrán	Van, de nincsenek benne szterolok*	Van, szterolokat tartalmaz
Sejtfal	Van, fő alkotója a peptidoglikán*	Lehet. Ha van, kitint vagy cellulózt, és nem peptidoglikánt tartalmaz
Ploiditás	Haploid	Lehet poliploid
Kromoszóma	Egy, körkörös DNS	Több, lineáris
Citoplazma kompartmentalizáció (mitokondriumok, Golgi, endoplazmás retikulum)	Nincs	Van
Átírás és átolvasás	Folyamatos	Nem folyamatos, az átírás a magban, az átolvasás a citoplazmában történik
Hisztonok	Hiszton szerű fehérjék	Valódi hisztonok
Riboszómák	70S (50S+30S)	80S (60S+40S)
Szaporodás	Aszexuális, bináris osztódással	Szexuális szaporodás lehetséges
Energiatermelés	A légzési lánc a sejtmembránhoz kötött	A légzési lánc a mitokondriumokhoz kötött

*A mycoplasmáknak nincs sejtfala (így peptidoglikánja sem), viszont sejtmembránjuk tartalmaz szteránvázas molekulákat

Szemben az eukaryotákkal, melyeknél a nagymértékben *kompartmentalizált* sejtet viszonylag egyszerű membránburok veszi körül, a prokaryotákban a kevéssé strukturált citoplazmát relatíve komplex rétegek, membránok, sejtfal, esetleg tok határolják el a külvilágtól. Ez teszi lehetővé, hogy számos olyan funkció, mely az eukaryotáknál a sejten belül zajlik, a prokaryotáknál a sejtburok egyes részeihez kötődjön.

A baktériumok a legkisebb élő sejtek, az önálló, független szaporodásra még képes szervezet alsó méretbeli határát jelentik. Méretük néhány tized és néhány mikron között van általában, tehát lényegesen elmarad a legtöbb eukaryota sejtétől. A 20–40 mikront elérő baktériumfajok sejtjei már valódi óriásoknak számítanak, ők már nagyobbak, mint a legkisebb eukaryota sejtek. A baktériumsejt alakjának variációi elmaradnak a közöttük egyébként sok tekintetben megszokott bámulatos változatosságtól. Morfológiájuk alapján mindössze néhány nagy csoportba sorolhatóak, igaz, ezeken belül még egy adott törzs sejtjeinek alakja is mutathat változatosságot függően a rendelkezésre álló tápanyagoktól, a szaporodás körülményeitől, annak fázisától vagy éppen a mikrobát érő stresszektől (pl. antibiotikus kezelés) (**2.1.6. ábra**).



2.1.6. ábra. A baktériumok főbb morfológiai típusai

Alapvetően *gömb, pálcika* és *spirális alakú* baktériumokat különítünk el. A *gömb alakúcoccusok* (kokkos: bogyó) leánysejtjei az osztódás után szétválhatnak, vagy hosszabb-rövidebb ideig összetapadva maradhatnak. Amennyiben két sejt marad együtt, *diplococcusokról* beszélünk (pl. a tüdőgyulladást okozó *Streptococcus pneumoniae*, az agyhártyagyulladást, vagy gonorrheát okozó neisseria fajok). Több sejt együtt maradásakor az egymást követő osztódások síkjától függően különböző csoportosulások jöhetnek létre. Ha az osztódás síkja mindig párhuzamos az előzőével, gyöngyfüzér szerű *streptococcusokat* (pl. *S. pyogenes* – többek között a mandulagyulladás, a vörheny és az orbánc okozója), ha a sík random, szőlőfürthöz hasonló *staphylococcusokat* kapunk (pl. *Staphylococcus aureus* számos gennyes gyulladás kiváltója). Az osztódás síkjának szabály szerinti váltakozása vezet a *tetrádok*, vagy az átkötött csomaghoz hasonló nyolcas alak (*sarcina*) kialakulásához.

A *pálcika alakú mikrobák a bacillusok* (baculus: bot, pálca). Ezek lehetnek nagyobbak, 5–8 mikron hosszúak (pl. *Bacillus anthracis* – a lépfene kórokozója), vagy egészen aprók, ún. *coccobacillusok* (pl. *Haemophilus influenzae* – többek között a középfülgyulladásért felelős). A hajlott pálcákat *vibrionak* (a név az ilyen fajok által gyakran mutatott „vibráló mozgásból származik – pl. a kolera kórokozója), vagy *commanak*, vessző alaknak nevezzük. Egyes pálcák jellemzően tégla-szerűek (pl. *Bacillus anthracis*), mások vége elnyúlt, hegyes (ún. *fusiform*). Egyes baktériumok (pl. *Actinomycetes*) *elágazó, gombaszerű* filamentumokat hoznak létre, melyek gyakran sugárszerű képet mutatnak a fertőzött szövetekben, innen a nevük: *sugár-gomba* (actis: sugár, mykes: gomba).

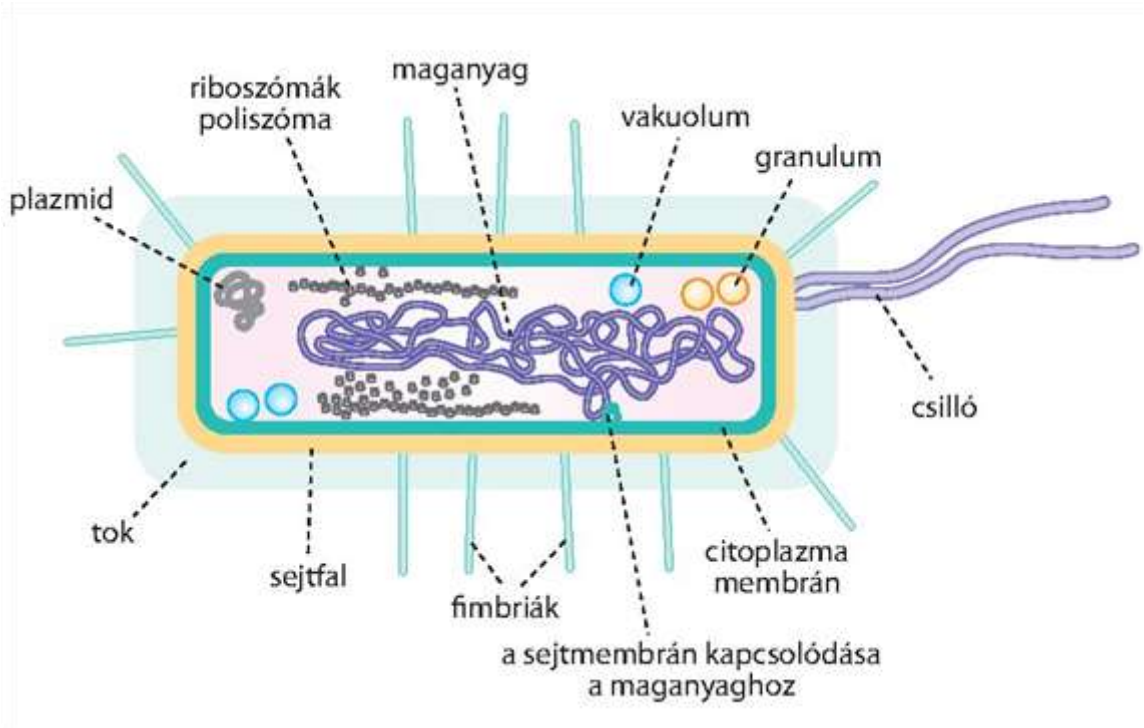
A *csavart, spirális baktériumok* alkotják a harmadik nagy csoportot. Nagy a változatosság köztük az általában hosszú sejtek (akár 40 mikron) hajlékonysága, a csavarulatok amplitúdójának nagysága tekintetében. A hajlékonyakat *spirochetáknak* nevezzük (pl. a

vérbaj vagy a Lyme-betegség kórokozói), köztük több jellegzetes mozgásszervvel, a tengelyfonallal mozog (lásd később). A merevebb, kisebb amplitúdóval rendelkezőek a *spirillumok*.

A mycoplasmáknak – sejtfal híján (lásd később) – nincs meghatározott alakjuk, általában energetikai okokból gömb alakot vesznek fel.

A baktériumsejt anatómiája

A baktériumsejt alkotórészeit szokás *nélkülözhetetlen* (*maganyag, citoplazma és a sejtmembrán*), és *járulékos sejtalkotó* részekre osztani (**2.1.7. ábra**).



2.1.7. ábra. A baktériumsejt főbb szerkezeti elemei

A nélkülözhetetlen sejtalkotók minden sejtben megtalálhatóak, nélkülük az élet *in vitro* sem lehetséges. A járulékos sejtalkotók a sejtburok citoplazma-membránon kívüli elemei, azaz a *sejtfal és a külső membrán, a tok, a fimbriák, a csillók és spórák*. Meglétük vagy hiányuk jellemző a genusra vagy fajra, vizsgálatuk fontos része a diagnosztikának. Jóllehet e sejtalkotók „csak" járulékosak, ez azonban nem jelenti, hogy nem fontosak, ugyanis ezek általában *„virulencia-„* vagy *„fitness faktorok"*. Ez azt jelenti, hogy amennyiben valamelyikük megléte jellemző egy adott fajra, az azt valamely genetikai változás miatt expresszálni nem tudó sejtek *in vivo* jelentős hátrányban vannak a többi (úgynevezett „vad típusú") baktériumsejttel szemben.

Az esszenciális sejtalkotók

A maganyag

Tekintve, hogy baktériumok örökítő anyaga a maghártya révén nem határolódik el a citoplazmától, esetükben nem valódi magról, nukleuszról, hanem *nukleoidról, maganyagról*

beszélünk, melyet gyakran a baktérium kormoszómájának is nevezünk. Ez egyetlen, kettős fonalú, az esetek döntő többségében cirkuláris DNS molekulából áll (a ritka kivételek közé pl. a Lyme-betegség kórokozójának, a *Borrellia burgdorferinek,* vagy egyes streptomycesek lineáris kromoszómája tartozik). Egy *Escherichia coli* sejt kör alakú kromoszómája „kiteregetve" mintegy 1–1,3 mm hosszú lenne. A kromoszóma nem feltétlenül reprezentálja a teljes genomot, a sejtben jelentős mennyiségű extrakromoszomális genetikai információ lehet jelen phagok, illetve plazmidok formájában, akár magas kópiaszámban is (lásd később, a Bakteriális genetika fejezetben). A prokaryota DNS bár hisztonokat nem, de ún. *hisztonszerű fehérjéket* tartalmaz, melyek fontos regulációs szerepet játszanak.

A maganyag DNS-e a citoplazma membrán betüremkedéséhez kapcsolódik. Feltételezik, hogy ennek a sejtosztódás során (az eukaryoták mitotikus apparátusának analógiájára) a megkettőződött kromoszóma szétválasztásában lenne szerepe. A sejtben, különösen az aktívan osztódó sejtben több kromoszómakópia is jelen lehet. (Ez természetesen nem jelenti azt, hogy a baktériumok ne lennének hapolid sejtek, tekintve, hogy e kromoszómák egymás kópiái, nem pedig különböző, „anyai és apai" eredetűek).

A citoplazma

A prokaryoták citoplazmája lényegesen egyszerűbb, illetve *kevésbé tagolt, „kompartmentalizált"*, mint az eukaryotáké. Alapállományát egy hidratált, viszkózus halmazállapotú közeg képezi, melynek mintegy 80%-a víz. Nem találhatóak meg benne a sejtmembrántól független lamelláris membránszerkezetek, mint az endoplazmás retikulum, a golgi, a kloroplasztok vagy a mitokondriumok. (E két utóbbi valószínűleg a kezdetleges eukaryotákat megfertőző, és velük tartós szimbiózist kialakított baktériumokból alakult ki!!) Ugyanakkor, szemben a korábban feltételezettel, a baktériumok is rendelkeznek az eukaryota sejtek mikrofilament rendszerét alkotó molekulák analógjaival. Egyre több bizonyíték áll rendelkezésre, hogy ezek kontraktilis filamentumokká rendeződhetnek, jóllehet funkcióik még kevésbé világosak, mint a magasabb rendűek sejtjeiben.

A maganyag, illetve a kromoszómától részben függetlenül replikálódó plazmidok (lásd később) mellett a citoplazmában foglalnak helyet a *riboszómák*, melyek a prokaryoták gyorsabb növekedése miatt sokkal nagyobb mennyiségben (sejtenként több tízezres számban) találhatóak. Szemben az eukaryota sejt 80S (60S + 40S) méretű riboszómájával, a prokaryotáké *70S, mely egy 50S és egy 30S alegységből* áll. Bár funkciója gyakorlatilag megegyezik a prokaryotáknál található riboszómákéval, a különbség mégis elég nagy ahhoz, hogy szelektív támadáspontot biztosítson számos antibiotikum számára. Így a prokaryoták nagyobb riboszomális alegységén hat, pl. a kloramfenikol, a linkomicin és eritromicin, a kis alegységén a tetraciklinek, a streptomicin és a spektinomicin.

A riboszómák jelentős része a mRNS-hez kötődik, és az úgynevezett *poliszómák* alkotásában vész részt. A maghártya hiányának köszönhetően a baktériumoknál a *transzkripció és transzláció szorosan kapcsolt*, azaz a még éppen átíródó mRNS-hez már hozzákapcsolódnak a riboszómák és már folyik a kész szakaszon az „átolvasás", azaz a fehérjék szintézise.

Egyes fajokra jellemző lehet *vakuolumok*, szervetlen szemcsék, tároló *granulumok* (pl. glikogén, keményítő) jelenléte. Orvosi, pontosabban diagnosztikai szempontból csak a torokgyík kórokozójában, a *Corynebacterium diphtheriae*-ben Albert-, vagy Neisser-festéssel kimutatható ún. *volutin szemcséknek* van jelentősége. A metakromáziás festődésű volutin

szemcsék, azaz Babes-Ernst szemcsék (Victor Babes sokáig Budapesten tanító, kiváló román mikrobiológus volt) valószínűleg a foszfát tárolásában játszanak szerepet.

A citoplazmamembrán

A bakteriális citoplazma membrán hasonló az eukaryotáknál megismerthez, azaz lényegében egy foszfolipidekből és fehérjékből álló *kettős hártya*. Fehérjetartalma azonban sokkal magasabb, mint a magasabb rendűek membránjaié, és szemben ez utóbbiakéval, nem tartalmaz szterolokat. Ez alól a sejtfalat (lásd később) nem képező mycoplasmák a kivételek, melyek külső forrásból szterolokat építenek be membránjukba, így némileg pótolva a sejtfal által nyújtott stabilitást. A szterolok hiányának gyakorlati következménye, hogy a szterol-támadáspontú gombaellenes szerek a baktériumokra nem hatnak. A maganyag, különösen a sejt osztódásakor, kapcsolódik a sejtmembránhoz. A membránban számos receptormolekula, permeáz, hordozó, a szekrécióban szerepet játszó molekula foglal helyet, így nem meglepő, hogy fehérjetartalma a 70%-ot is elérheti. Számos kemotaktikus receptor helye, illetve dezinficiens hatású vegyület (pl. detergens hatásúak) és antibakteriális szer (pl. polimixinek) támadáspontja a sejtmembrán.

Járulékos sejtalkotók

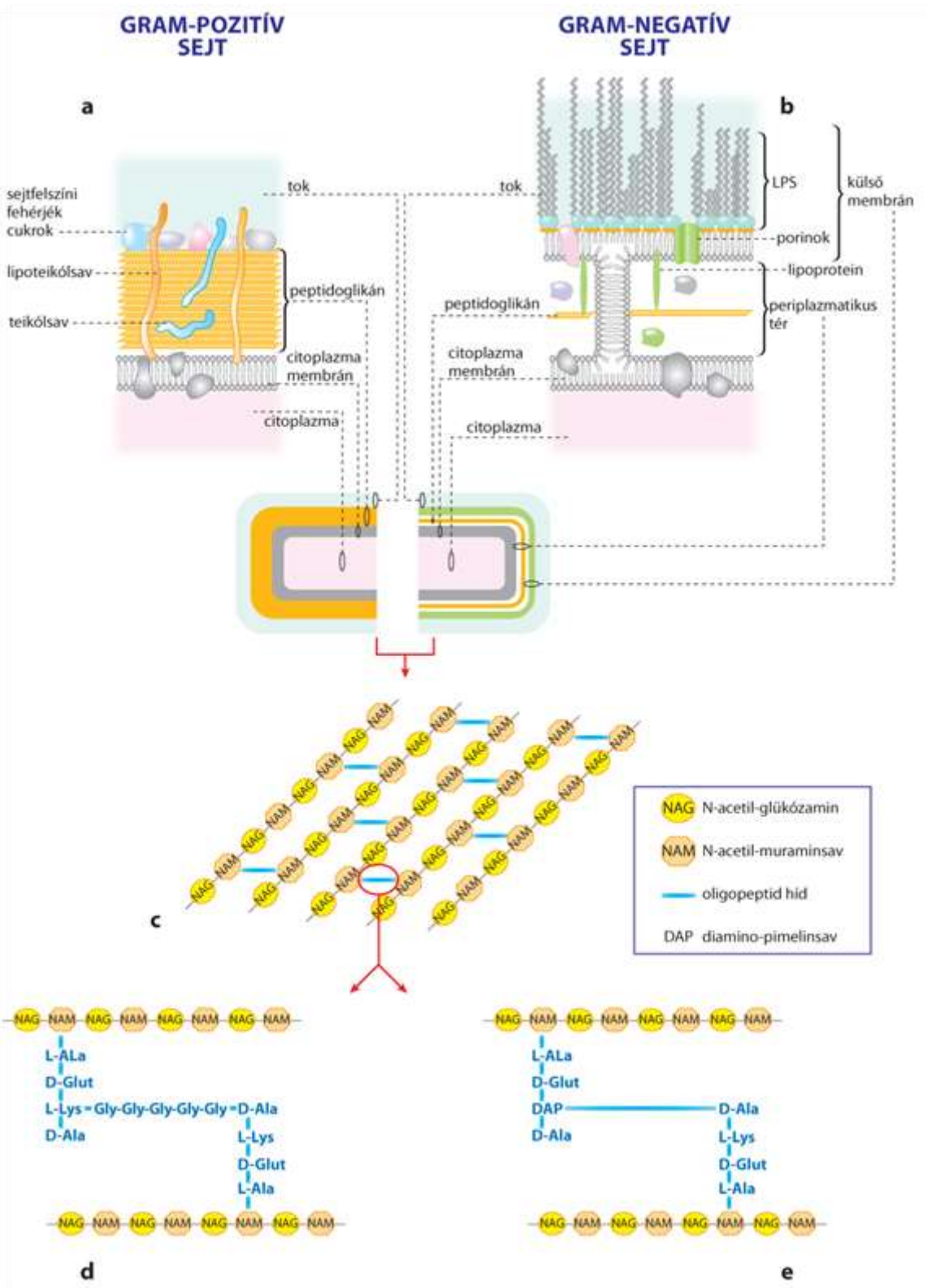
A sejtfal (sejtburok, envelop)

Szűkebb (főleg korábban elterjedt értelmezésben) a sejtfal kizárólag a prokaryotákra jellemző szilárd peptidoglikán réteget jelenti. Ez a Gram-pozitívok esetén többé-kevésbé meg is felel a valóságnak, tekintve, hogy esetükben ez adja a sejtet körülvevő anyag túlnyomó többségét. Hogy a kifejezés a bonyolultabb szerkezetű Gram-negatívokra is vonatkozhassék, melyeknél a peptidoglikán aránya lényegesen kisebb, az elnevezést újabban gyakran kiterjesztik mindazon rétegekre, amelyek a citoplazma membrán és az esetleg jelenlévő tok között helyezkedik el. E rétegeket együttesen újabban a *sejtburok (envelop)* névvel illetik. Jóllehet léteznek a természetben sejtfal nélküli mikrobák is, a legtöbb baktérium esetén a sejtburok több elemének elvesztése *in vivo* hátrányt jelent az organizmus számára. A sejt a teljes sejtfal elvesztése után is életben tartható (tehát szigorúan véve nem esszenciális elem), igaz, ehhez már különleges laboratóriumi körülmények szükségesek (lásd később).

Az evolúció során a sejt mechanikai védelmére, alakjának az óriási (5–20 atm) belső ozmotikus nyomással szemben való fenntartására, a károsító anyagok távoltartására, a táplálékfelvétel és szekréció biztosítására, egyáltalán, a környezettel való kapcsolat-tartásra a baktériumok sejtburkának két alapvető szerkezeti változata alakult ki, a *Gram-pozitív és a Gram-negatív* „megoldás” (**2.1.8. ábra, A és B**).

Az elnevezés egy festési eljárásra, a Gram-festésre utal, melyet részleteiben a Diagnosztika fejezetben ismertetünk.

Az egyszerűbb szerkezetű Gram-pozitív sejtfal fő komponensei a *peptidoglikán* (másnéven *mukopeptid vagy murein*), a *teikolsav*, továbbá némi szénhidrát és fehérje



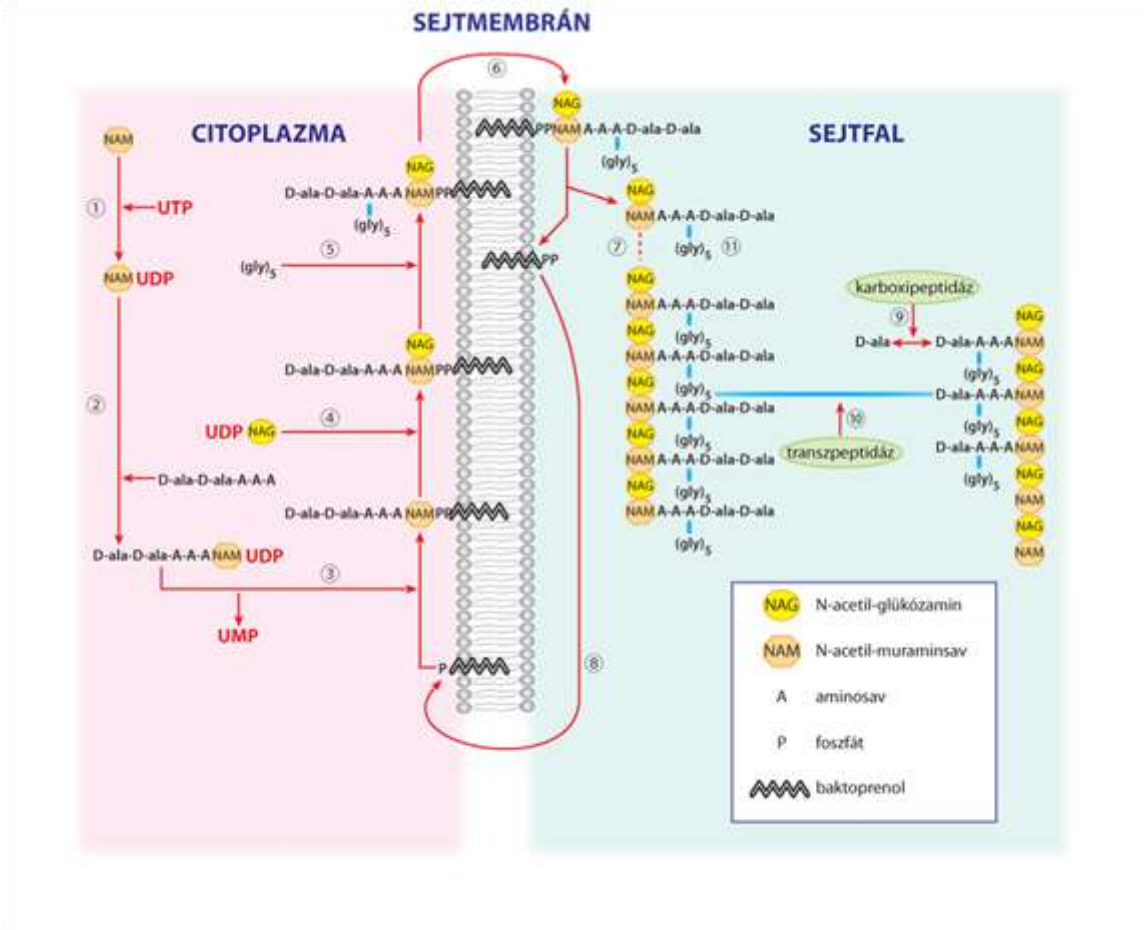
2.1.8. ábra. A Gram-pozitív és Gram-negatív sejt szerkezetének összehasonlítása (A–E)

A peptidoglikán alapvetően hasonló szerkezeti elvek szerint épül fel minden baktériumban: az N-acetil-glükozamin (NAG) és N-acetil-muraminsav (NAM – az N-acetil-glükózamin tejsavval alkotott észtere) molekulákból álló láncot a muraminsavhoz kapcsolt oligopeptid hidak kötnek össze egy háromdimenziós rendszerré **(2.1.8. ábra, C).** Az így térhálósított

peptidoglikán, mint egy egybefüggő, meglehetősen merev zsák (*murien zsák vagy sacculus*), veszi körül a sejtet. A zsák porózus: mintegy 10 000 dalton molekula tömegig az anyagok szabadon diffundálhatnak rajta keresztül.

A NAM-NAG láncokat összekötő oligopeptid hidak összetétele tekintetében jelentős a változatosság. A Gram-pozitív coccusokban a NAM-hoz kötődő tetrapeptid harmadik aminosavjaként L-lizin található, ami egy további oligopeptid híddal (staphylococcusokban egy penta-glicin híddal) kötődik a szomszéd lánc tetrapeptidjének utolsó, D-alanin molekulájához (*Lizin-típusú peptidoglikán*, **2.1.8. ábra, D**). A Gram-negatív baktériumokban és a Gram-pozitív pálcákban a NAM-hoz kötődő tetrapeptid harmadik aminosava a lizin helyett *diamino-pimelinsav* (*DAP, DAP-típusú peptidoglikán*), mely a közbeiktatott penta-glicin nélkül, közvetlenül kapcsolódik egy másik NAG-NAM lánc tetrapeptidjének utolsó, D-alanin molekulájához (**2.1.8. ábra, E)**. A láncok közötti keresztkötések sűrűsége lényegesen nagyobb (a fal erősebb) a Gram-pozitív mikrobák esetén, amire szükség is van, hiszen ezek belső ozmotikus nyomása általában magasabb, mint a Gram-negatívoké.

Tekintve, hogy a peptidoglikán specifikus a prokaryotákra, a termeléséhez vezető bioszintetikus folyamatok is csak baktériumokban találhatóak meg. Ezek ismerete azért fontos, mert több antibiotikum ezen lépések valamelyikén hatva fejti ki anti-mikrobás hatását (**2.1.9. ábra).**



2.1.9. ábra. A peptidoglikán szintézise.

A peptidoglikán szintézis

Első lépésként a citoplazmában szintetizálódott NAM egy UTP (uridil trifoszfát) felhasználásával aktiválódik és UDP-NAM keletkezik (1), melyhez egy terminálisan két D-alanint tartalmazó pentapeptid kapcsolódik (2). Az aktivált NAM-peptid komplex egy UMP leadása révén a membránhoz kötött hordozó molekulához (*foszfo-baktoprenol*) kötődik (3), majd ehhez kapcsolódik a szintén aktivált NAG is (4). A lizin típusú peptidoglikánoknál ilyenkor kapcsolódnak az egyéb keresztkötő peptid hidak (pl a penta-glicin) is az egységhez (5). A diszaharid-peptid komplex a carrier molekulához kötve jut át a citoplazma membrán külső felszínére (6). Ott, felhasználva a felbomló, azt a hordozóhoz kapcsoló kötés energiáját, az új NAM-NAG-peptid egység a már meglévő – NAM-NAG – polimer lánchoz kötődik (7). A leváló baktoprenol hordozó molekula pirofoszfát kötésének felbomlásával foszfo-baktoprenolként jut vissza a membrán belső felszínére újabb cukorpeptid-egységekért. Ezt a lépést gátolja a *bacitracin* antibiotikum (8).

A láncok közötti peptidkötés létrehozásához az alegységhez kapcsolódó pentapeptid terminális két D-alaninja közötti kötés felbomlásából származó energia „cserélődik be", tehát a NAM-NAG lánchoz közvetlenül kötődve csak négy aminosav marad. A D-Ala-D-Ala kapcsolatot DD-carboxipeptidázok oldják fel (9). A NAM-NAG láncok között transzpeptidáz enzimek hozzák létre a peptid hidakat, a DAP típusú peptidoglikánokban tehát közvetlenül, a Lizin-típusúakban, mint láttuk, egy további oligopeptid közbeiktatásával. A carboxipeptidázokat és transzpeptidázokat együttesen penicillin kötő fehérjéknek (*PBP, Penicillin Binding Proteins*) nevezünk. Ezekből minden baktérium több félével rendelkezik: például másokat használ a sejt a peptidoglikán lánc hosszabbításához, másokat a sejtosztódás során a leánysejteket elválasztó szeptum szintéziséhez. A penicillin (és egyéb *béta-laktám antibiotikumok*, lásd később) szerkezeti hasonlóságot mutatnak ezen enzimek természetes szubsztrátjain található D-Ala-D-Ala struktúrával. Ha a szubsztrát helyett ezek kötődnek az enzimekhez, meggátolják a sejtfal szintézisét. Ez egyben azt is érthetővé teszi, miért hatnak a penicillinek csak a sejtfalat aktívan szintetizáló, növekvő sejtekre (10). Egy másik, szintén a sejtfal szintézisét gátló antibiotikum csoport, a *glikopeptidek*, az alegységek D-Ala-D-Ala terminális aminsavjaihoz kötődve gátolják meg azoknak a már kész lánchoz történő kapcsolódását (1).

Amellett, hogy a peptidoglikán számos alkotórésze (pl. a muraminsav, számos D-aminosav, a diaminopimelin sav) csak prokaryotákban található meg, maga a polimer szerkezet egésze is jellemző a baktériumokra. Ennek egyik fontos következménye, hogy a peptidoglikán egyike a fontos, a szervezet natív, természetes immunitása által felismert struktúráknak (azaz úgynevezett *PAMP – Pathogen Associated Molecular Patterns*). A másik következmény, hogy a peptidoglikán nagyfokú biológiai stabilitással rendelkezik: Az emlősök általában nem termelnek a peptidoglikánt emészteni tudó enzimet. Gyakorlatilag az egyetlen kivétel a szekrétumokban (pl. könny) található *lizozim*, mely a NAG-NAM közötti kötések hasításával a szervezet fontos természetes védekező funkcióját jelenti. Ezzel szemben a baktériumok maguk, számos mureinbontó hidrolázt tartalmaznak, melyeknek a sejtosztódás során, a sejtfal szükségszerű „bővítésénél" van szerepe. Amennyiben ezek az enzimek pl. egyes antibiotikumok hatására kikerülnek a kontroll alól, az a sejt feloldásához, *autolíziséhez* vezet.

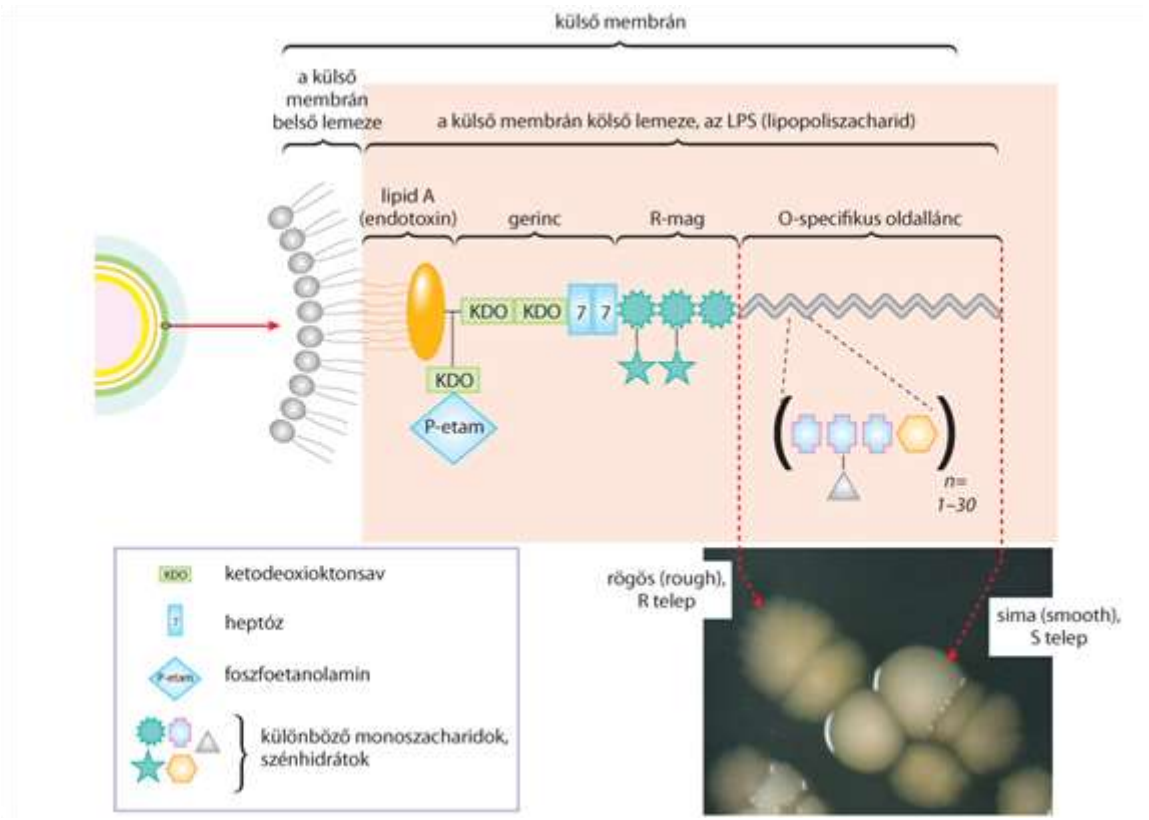
A Gram-pozitív sejtfalra jellemző másik, esetleg annak 50%-át is elérő komponens, a glicerol-foszfát vagy ribitol-foszfát polimerjéből álló *teikolsav* (**2.1.**8. ábra, A), melyhez különböző cukrok, aminocukrok kapcsolódnak. Egyes teikolsav molekulák kovalensen kötődnek a peptidoglikán NAM komponenséhez. Amennyiben a teikolsav a peptidoglikán alatt levő citoplazmamembránhoz kapcsolódik, *lipoteikolsavról* beszélünk, melynek fontos szerepe van a sejtfal sejtmembránhoz való rögzítésében. A teikolsav molekulák a Gram-

pozitív baktériumok egyik fontos felszíni antigénjét jelentik (pl. *a Staphylococcus aureus* ún. A poliszaharidája teikolsav, míg az *Enterococcus faecalis* D antigénje lipoteikolsav). A felszíni lipoteikolsavnak szerepe lehet az adhézióban is, pl. *Streptococcus pyogenes* esetén a baktérium M fehérjéjével mikrofibrillumokat alkotva segíti a baktérium sejthez való tapadását (2.18. ábra, A).

A Gram-pozitív sejtfalhoz ezen kívül még szénhidrátok (pl. a streptococcusok csoport-specifikus antigénjei), vagy fehérjék (mint pl. a fentebb említett *S. pyogenes* M proteinje) kapcsolódnak, melyek egyrészt kolonizációs szerepet játszanak, másrészt elősegítik a baktériumok szerológiai osztályozását.

A Gram-negatív sejtfal a viszonylag egyszerű Gram-pozitívhoz képest lényegesen összetettebb, szinte barokkosan cizellált (2.1.8. ábra, B). A citoplazma és a később tárgyalandó külső membrán között található az ún. *periplazmikus tér*. Ez valójában nem is annyira tér, mint inkább egy, a Gram negatív baktériumok *vékony peptidoglikán* rétegét is tartalmazó, részben az által alkotott gél. A *murein zsák* itt csak egy-két rétegből áll (szemben a Gram-pozitívaknál látott akár 40 réteggel), és a keresztkötések száma is jóval alacsonyabb, de még így is felelős a baktérium alakjáért. A periplazmikus gél igen fontos a Gram-negatív mikrobák szempontjából. Számos oldott fehérje, hidrolázok, antibiotikum-degradáló enzimek, toxikus nehézfémeket hatástalanító anyagok, a kemotaxisban, transzportban szerepet játszó hordozó fehérjék, éppen transzportálódó molekulák találhatóak benne. Egyes bakteriális toxinok (pl. koleratoxin) alegységei itt halmozódnak fel és épülnek össze teljes toxin molekulává, mielőtt szekretálódnának a baktériumból. A sejt oligoszaharidákat képes a periplazmába szekretálni, mely így ozmotikus pufferként szolgál a sejt és a külvilág között.

A periplazmatikus gél külső határa az ún. *külső membrán (outer membrane, OM)*. A citoplazma membránhoz hasonlóan ez is egy foszfolipid kettős réteg, azonban külső lemeze eltér a korábban megismert membrán strukturákétól. Ezt a szokásos membrán-lipidek helyett egy jellegzetes, komplex molekula, a *lipopoliszaharida (LPS)*, pontosabban annak legbelső eleme, az ún. *lipid A* alkotja (2.1.8. ábra, B, és **2.1.10. ábra**). A lipid A egy speciális foszfolipid, szinte minden Gram-negatív baktériumban azonos, vagy nagyon hasonló.



2.1.10. ábra. A lipopoliszaharid (LPS) szerkezete. A fotón az O-specifikus oldalláncot mutáció révén gyakran veszítő törzs S és R telepei láthatóak

Igen toxikus (hatásait lásd később), és mivel a sejtből aktívan nem szekretálódik, hanem a sejthez kapcsolt, *endotoxinnak* hívjuk.

Kifelé haladva az LPS következő egysége, az ún. *R mag (core),* melynek a lipid A felé eső belső, nagyfokban konzervált részét korábban „gerinc" néven különítették el. A külső R mag néhány cukormolekulából áll, eddig öt különféle magszerkezetet ismerünk. A mag az R jelzőt onnan kapta, hogy ha a baktérium az LPS ettől distalis elemeit nem szintetizálja (ezek az ún. *R mutánsok*), azaz a legkülső a core régió marad, akkor ez a baktériumsejtnek hidrofób, a telepnek pedig *rögös (R, angolul rough)* jelleget ad. Az ilyen R mutánsok patogén képességüket elveszítik.

Az R maghoz kapcsolódik az LPS legkülső része, az ún. *O-specifikus oldallánc,* mely a Gram-negatív baktériumok fő felszíni antigénjét, az ún. *sejtfal (bélbaktériumok esetén O-nak nevezett) antigénjét* adja. Az O specifikus oldallánc 3-5 cukormolekulából álló egységek polimerje. Igen nagy kémiai, és ennek következtében antigenitásbeli változatosságot mutat, így a legtöbb Gram-negatív baktérium szerológiai csoportosításának alapját képezi. A hosszú poliszacharida oldalláncok a sejt felszínének kifejezett hidrofil tulajdonságot biztosítanak. E telepek általában *S telepek, sima felszínűek (S - smooth).*

Néhány Gram-negatív genus, pl. neisseriak, haemophilusok oldallánca sokkal rövidebb, gyakran elágazó szerkezetű. Ezeket *lipooligoszacharidáknak (LOS)* nevezzük. Jellegzetességük, hogy igen nagy változékonyságot mutatnak még az adott törzsön belül is, így erősen megnehezítik a megtámadott gazdaszervezetben immunmechanizmusok révén történő eliminálásukat. Ezt még fokozza, hogy egyes fajokban, különösen a nemibetegséget

okozó *H. ducreyi* vagy a *N. gonorrhoeae*, vagy a gennyes agyhártyagyulladásért felelős *N. meningitidis* esetén a LOS molekulák könnyen vesznek fel egy sziálsav maradékot, így nagymértékben hasonlóvá válnak a szervezet számos saját antigénjéhez.

Az LPS réteg elvileg minden szerves molekula sejtbe történő bejutását képes megnehezíteni. A külső, hidrofil O-specifikus oldallánc a hidrofób molekulák – köztük sok antibiotikum – behatolását akadályozza, míg az LPS belső, hidrofób része a hidrofil molekuláknak szab gátat. Az LPS molekulákat kétértékű kationok erősítik egymáshoz, melyek kelátorokkal (pl. EDTA) való megkötése, vagy polikation tulajdonságú antibiotikumokkal való helyettesítése a membránt meggyengíti, átjárhatóvá teszi.

Természetesen ez a nagyon hatásos *barrier funkció* a sejt számára nélkülözhetetlen molekulák bejutását is megakadályozná. Ez részben a később tárgyalandó aktív transzport révén valósul meg, részint pedig a külső membránban található *pórusokon* keresztül. Ezeket a pórusokat, pontosabban a külső membrán mindkét rétegén áthaladó, és a periplazmikus térbe vezető csatornákat a külső membránban levő ún. *porin fehérjék* alkotják. Némelyek, mint pl. az OmpC (Outer membrane protein C), D, vagy F által létrehozottak kevéssé fajlagosak, gyakorlatilag minden *E. coli* esetén kb. 700 daltonnál kisebb hidrofil molekula (cukrok, aminosavak stb.) átdiffundál rajtuk. Némelyik külső membrán fehérje ennél specifikusabb transzportfunkciót lát el, mint pl. a maltóz szállításában szerepet játszó LamB (nevét onnan kapta, hogy egyben a lambda fág receptora is). A külső membrán permeabilitása nagymértékben változik a fajtól függően. Az antibiotikumokra gyakran igen rezisztens pseudomonasoké például jóval kevésbé átjárható, mint az általában jóval érzékenyebb *E. coli*-é. Ugyanakkor e membrán ellenkező irányban is barrier funkciót tölt be például azzal, hogy megakadályozza a periplazmikus fehérjék „szivárgását".

A külső membránban nagy tömegben megtalálható fehérjéket *fő külső membrán fehérjéknek (major OMP)* nevezzük. Emellett számos egyéb fehérje is található benne, receptorok, transzport fehérjék, sőt olyanok is, melyek a sejtek adhéziójában játszanak szerepet. A külső membrán legnagyobb mennyiségben jelenlévő fehérjéje az ún. *Braun-féle lipoprotein*, mely kovalensen kapcsolódik mind a külső membrán lipidjeihez, mind pedig a peptidoglikánhoz.

A membrán belső rétege esetenként „befelé fordulva" a citoplazma membrán külső rétegébe megy át. Ezeknek az ún. *adhéziós zónáknak* a funkciója nem ismert.

A külső membrán fehérjéknek a kórokozó képességben betöltött szerepéről a későbbiekben lesz szó. Fontos azonban már itt megemlíteni, hogy sok esetben nem konstitutive jelennek meg, hanem bizonyos környezeti vagy gazdaszervezeti *stressz hatására* szintetizálódnak, genetikai információjuk pedig nem ritkán extrakromoszomális eredetű. Példaként említhetjük – a stressz és az extrakromoszomális információ szempontjából is – a vaslimitáció hatására képződő aerobactin sziderofor receptorokat, vagy a gazdaszervezeti hőmérséklet indukálta *Yersinia* és *Shigella* OMP-okat.

Sejtfal nélküli baktériumok

Az eubactériumok közül az *mycoplasmáknak* nincs sejtfaluk, csak a citoplazmamembrán határolja őket, melybe viszont képesek külső forrásból származó *szterolokat* beépíteni. Sejtfal híján a mycoplasmák alakja változékony, és igen érzékenyek a környezeti hatásokkal szemben.

Ha egy egyébként sejtfallal rendelkező baktériumról a sejtfalat eltávolítjuk, a nagy belső ozmotikus nyomás miatt a sejt kipukkad, hacsak nem helyezzük hiperozmotikus folyadékba, pl. cukor oldatba. Ha – főleg Gram-pozitív sejtekről – lizozim hatására sikerül a peptidoglikánt teljesen leemésztenünk, vagy szintézisét penicillinnel megakadályoznunk, ún. *protoplasztokat* kapunk. A Gram-negatív baktériumok esetén ez nem lesz teljes, mindig marad valamennyi peptidoglikán és külső membrán. Ezeket a képleteket hívjuk *szferoplasztoknak*. Ezen utóbbiak néha még osztódni is képesek, sőt, a sejtfalmentes állapotot előidéző noxa megszűnése után visszaalakulhatnak vegetatív sejtekké.

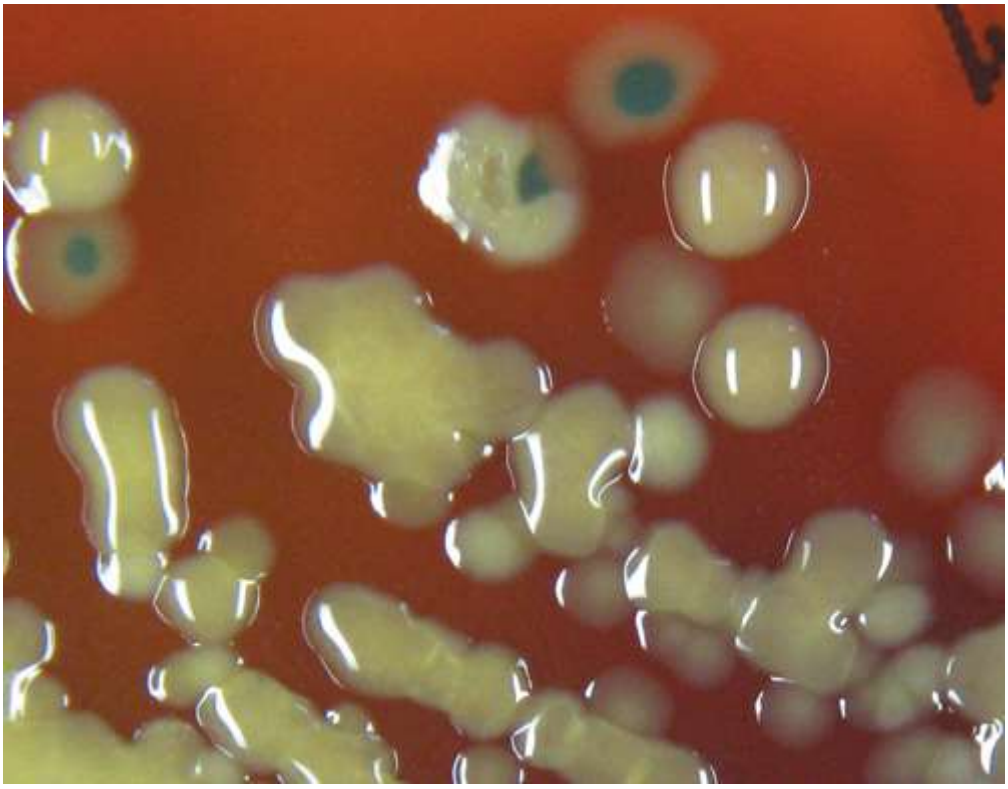
Stabil sejtfal nélküli formák egyes fajok esetén spontán is kialakulhatnak. Ezeket a londoni Lister Intézet neve után, ahol először figyelték meg őket, *L-formáknak* nevezzük. Elképzelhető, hogy a mycoplasmák is így alakultak ki valamilyen ismeretlen őssejtből, bár újabb, genetikai vizsgálatok megkérdőjelezik ezt a hipotézist.

Jelentőségüket az a feltételezés adja, hogy elsősorban a sejtfal szintézisét gátló antibiotikumokkal folytatott kezelés alatt a szervezetben létrejöhetnek ilyen sejtfalmentes formák, melyek így már nem érzékenyek az adott szerrel szemben. Ezek a később esetleg vegetatív formákká visszaalakuló alakok egyes krónikus infekciók, pl. a vesék gyulladásának fenntartásában játszhatnak szerepet.

A tok

Számos baktérium termel egy, a sejtet körülvevő *hidrofil gélt*. Ezt a réteget – meglehetősen szubjektív módon –, ha fénymikroszkóppal (tok-, vagy negatív festés után) jól látható, *toknak* nevezzük (**2.1.11. ábra, A)**.

2.1.11. a. ábra. A bakteriális tok. A: Immunfluoreszcenciával láthatóvá tett bakteriális tok (Public Health Image Library, CDC, Atlanta, USA. No. 1888. Larry Stauffer, Oregon State Public Health Laboratory, felvétele), B: tokos baktérium nyákos telepei



2.1.11. b . ábra .

Ha a tok vastagsága a fénymikroszkóppal való láthatóságot nem éri el, *mikrokapszuláról* beszélünk. Amennyiben a tok anyaga a sejttel nincs szorosabb kapcsolatban, csak körülötte lazább, amorfnak tűnő anyagként helyezkedik el, *extracelluláris nyáknak*, ha fibrilláris szerkezetet is mutat, *glikokalixnak* hívjuk. A baktériumok többsége termel valamilyen extracelluláris nyákot, és a különböző formák közötti különbség nem feltétlenül éles. Az identifikálás szempontjából tokosnak a valódi tokot és mikrokapszulát képező törzseket tekintjük. Egy törzs termelhet egyszerre valódi tokot és lazább nyákot is. A nagy mennyiségű tokanyagot képező törzsek telepei általában fényes, mukoid kinézetűek (**2.1.11. ábra, B)**, sőt gyakran kaccsal megérintve kifejezetten ragacsos-nyákosak. A tokanyag mennyisége függ a környezeti, tenyésztési feltételektől (tápanyagok, szén-dioxid tenzió, hőmérséklet). Anyaga az esetek döntő többségében valamilyen *hidrofil poliszaharid*. Ritka (és magyar vonatkozású) kivétel a lépfenét okozó *Bacillus anthracis*nak az Ivánovics és Bruckner által azonosított poli-D glutaminsav tartalmú tokja.

A tok sokrétű funkciókat lát el. Legfontosabb feladata, elsősorban hidrofil jellegénél fogva, hogy a részben hidrofób interakciókon alapuló *fagocitózist gátolja*, különösen a fertőzés kezdetén, az opszonizáló antitestek megjelenése előtt. Nem véletlen tehát, hogy számos, invaziv fertőzést okozó mikroba tokos. *Védi a sejtet* különböző, a baktériumra nézve káros anyagtól, pl. lizozimtól, bacteriophagoktól, bakteriocinektől, komplementtől. Közrejátszhat az *adhézióban*, azaz a baktériumnak a kolonizálandó felületen való megtapadásában. Erre jó példa a *Streptococcus mutans* által termelt tokanyag, mely elősegíti a fog felszínéhez való tapadást, és így a plakk kialakulását. Egyes mikrobák esetén (pl. *Salmonella* Typhi), a toknak

fontos *maszkírozó szerepe* van, a tokszerű Vi antigén szinte elrejti a tífusz baktérium LPS-ét a gazda-szervezet elől (lásd a Salmonella fejezetben). Több baktérium esetén szerepe meghatározó az ún. *molekuláris mimikriben*, mikor a gazdaszervezet saját antigénjeivel megegyező tok-epitópok révén megzavarja a saját-idegen megkülönböztetést. Az *E. coli* K1, a *Neisseria meningitidis* B tok antigénjei, vagy a *Streptococcus pyogenes* hialuronsav tokja sorolhatóak ebbe a csoportba (lásd az egyes mikrobákat tárgyaló fejezetekben)

A tok tehát az egyik legfontosabb virulencia faktor, a tokjukat veszített mutánsok általában virulenciájukat is elveszítik. Ugyanakkor a tok – a mikroba szempontjából – kétélű fegyver. Tekintve, hogy az esetek többségében a *tok jó antigén, ellene erős antitest válasz jön létre*. A tokos mikrobák által létrehozott, különösen szisztémás fertőzések esetén ez gyakran az egyik meghatározó védekező mechanizmus: a tokra fajlagos antitestek a mikrobát opszonizálva segítik annak fagocitózisát, illetve a komplement rendszer általi elpusztítását Ezt természetesen azt is jelenti, hogy számos fertőzés megelőzésében a tok antigénből készült védőoltás hatásosan alkalmazható (pl. *Haemophilus influenzae* B, *Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae*).

A tok antigenitása a *diagnosztikában* is kihasználható: a tok anitgenitásán alapulva *szerotipizálhatjuk* a mikrobákat. Több gyorsteszt elve, hogy a klinikai mintából a *tok antigént, és nem a teljes mikrobát mutatjuk ki*. Ilyen módszerek pl. az agy-gerincvelői folyadékból végzett, a különböző meningitist okozó baktériumok és gombák tok antigénjeit megcélzó tesztek. Végül lehetőség van egyes esetekben (pl. hastífusz) a tok ellen létrejött *antitestválasz mérésére* is, retrospektíve igazolandó a feltételezett etiológia ágens szerepét.

A sejtközötti anyag terápiás alkalmazást is nyer a plazmapótlás gyakorlatában. A *Leuconostoc mesenteroides* nevű baktérium által termelt dextrán infúziós oldatok összetevőjeként szerepel.

A csillók, a baktériumok mozgása

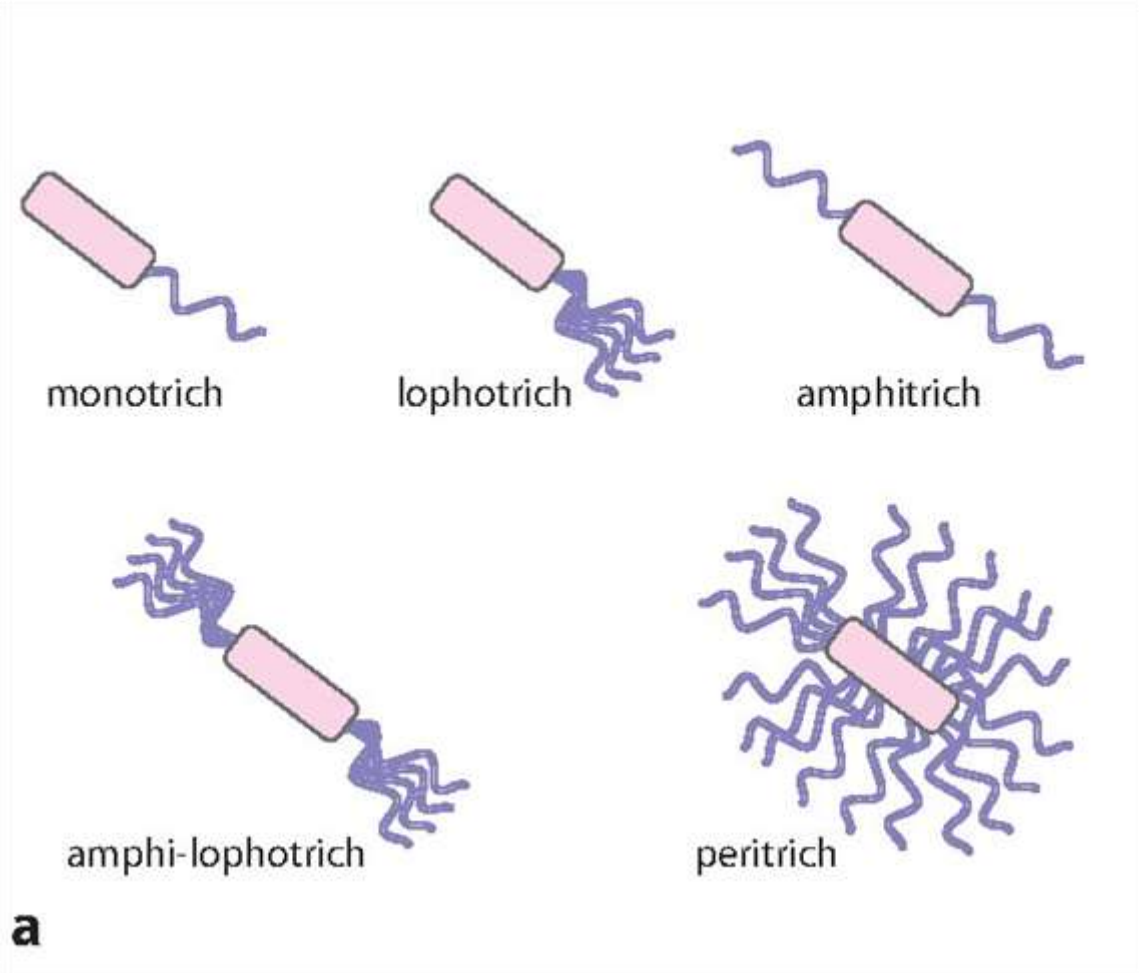
Nem minden baktérium sejt mozog, azonban az arra képesek között a mozgásnak általában nagy jelentősége van. Az intenzíven mozgó mikrobák gyorsabban tudják elhagyni a gyomor-béltraktus kedvezőtlen pH-val rendelkező területeit (pl. salmonellák, vibriók, campylobacterek), könnyebben haladnak felfelé a húgyútakban (pl. *E. coli, Proteus mirabilis*), illetve jutnak át a nyálkahártyát borító mukusz rétegen (pl. vibriók, *Helicobacter pylori*).

A legtöbb, az orvosi mikrobiológia szempontjából is jelentőséggel bíró motilis baktérium *csillókkal* mozog. A csillók egy fehérje (*flagellin*) polimerjéből álló hosszú, keskeny, hajlékony nyúlványok.

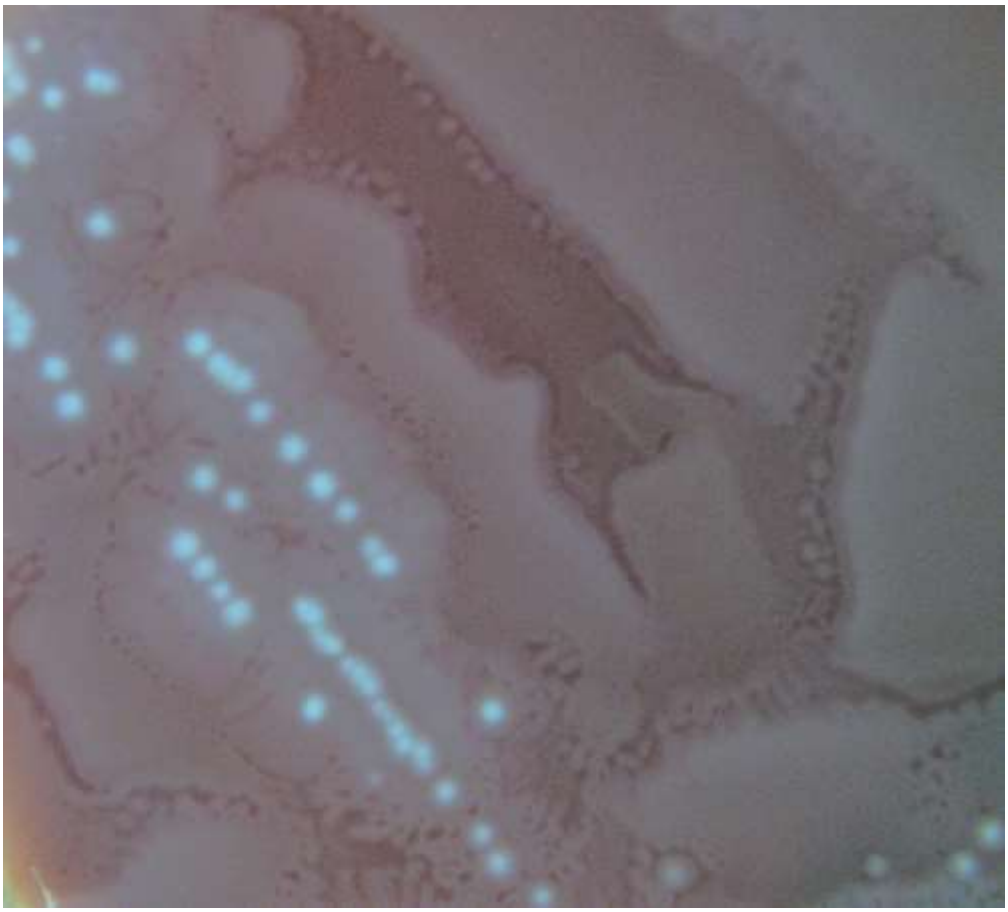
A fajra jellemzően lehet a csillókból sejtenként egy az egyik póluson (*monotrich*, trichos = haj), több ugyanazon a póluson (*lophotrich,*), egy-egy mindkét póluson (*amphitrich*), egy-egy csomó mindkét oldalon (*amphi-lophotrich*) vagy több, körben a sejtfelszínen (*peritrich*)(**2.1.12. ábra, A)**. A baktérium csillók mozgása ***rotáló*** (tehát eltérően a magasabb rendű egysejtűek csillóitól, nem csapkodó), melyhez az energiát proton gradiens biztosítja. Ha több csillója van a baktériumnak, azok az egyenes irányú haladás idejére egy *köteggé állnak össze*. A csillók mindkét irányban – de mindig szinkronizáltan – rotálhatnak. *Egyenes irányú haladás* akkor jön létre, ha a forgás az óra járásával ellentétes irányba történik. Az óra járásával megegyező forgás esetén a baktérium egy helyben *„totyog”, bukfencezik (tumble)*. A mikrobiális mozgás iránya általában nem random: bizonyos attraktánsok (pl. táplálék, fény

stb.) felé közelít, vagy másoktól, a repellensektől (pl. toxikus anyagok) távolodik, azaz *pozitív* vagy *negatív taxist* mutat. A mozgás a bukfencezések végén kialakuló véletlenszerű irányba induló egyenes haladás és a totyogások váltakozó fázisaiból áll. Ha a sejt haladása véletlenül a helyes irányba indul (az attraktáns felé vagy a repellenstől távolodóan), akkor a csilló egyenes mozgását biztosító, az óra járásával ellentétes forgása időben tovább tart, mintha az irány rossz lenne. Ennek következtében a baktérium később kezd el ismét bukfencezni kitéve magát az újabb random irányváltás lehetőségének.

A csillómozgás elsősorban folyékony közegben való előrehaladást tesz lehetővé. Ez az oka annak, hogy az egyébként mozgásra képes baktériumok többsége az olyan relatíve szilárd felszíneken, mint a közönséges agar táptalaj (1,5–1,7% agar-agar koncentrációval) nem mozog, azokon telepeket képez. Az agar koncentráció csökkentésével már megindul a tényleges mozgás, a motilis baktériumok e „*híg agarral*" töltött csöveket a pontszerű beoltás után megzavarosítják – ez a csillómozgásra való képesség legegyszerűbb vizsgálati módja. Egyes, különlegesen aktívan mozgó mikrobák (pl. proteusok) még a közönséges agar lemezek felszínén is képesek haladni, annak felszínén növekedésükkel egy hártyát hoznak létre: *rajzanak* (**2.1.12. ábra, B**). A bélbaktériumok csilló antigénjeit ezért, utalásként e leheletvékony hártyára (a német *derHauch* leheletet jelent) *H antigénnek* nevezzük.



2.1.12. a. ábra. A baktériumok csillója. A: a csillók elhelyezkedése, B: rajzás a táptalaj felszínén (Proteus mirabilis)



2.1.12. b. ábra.

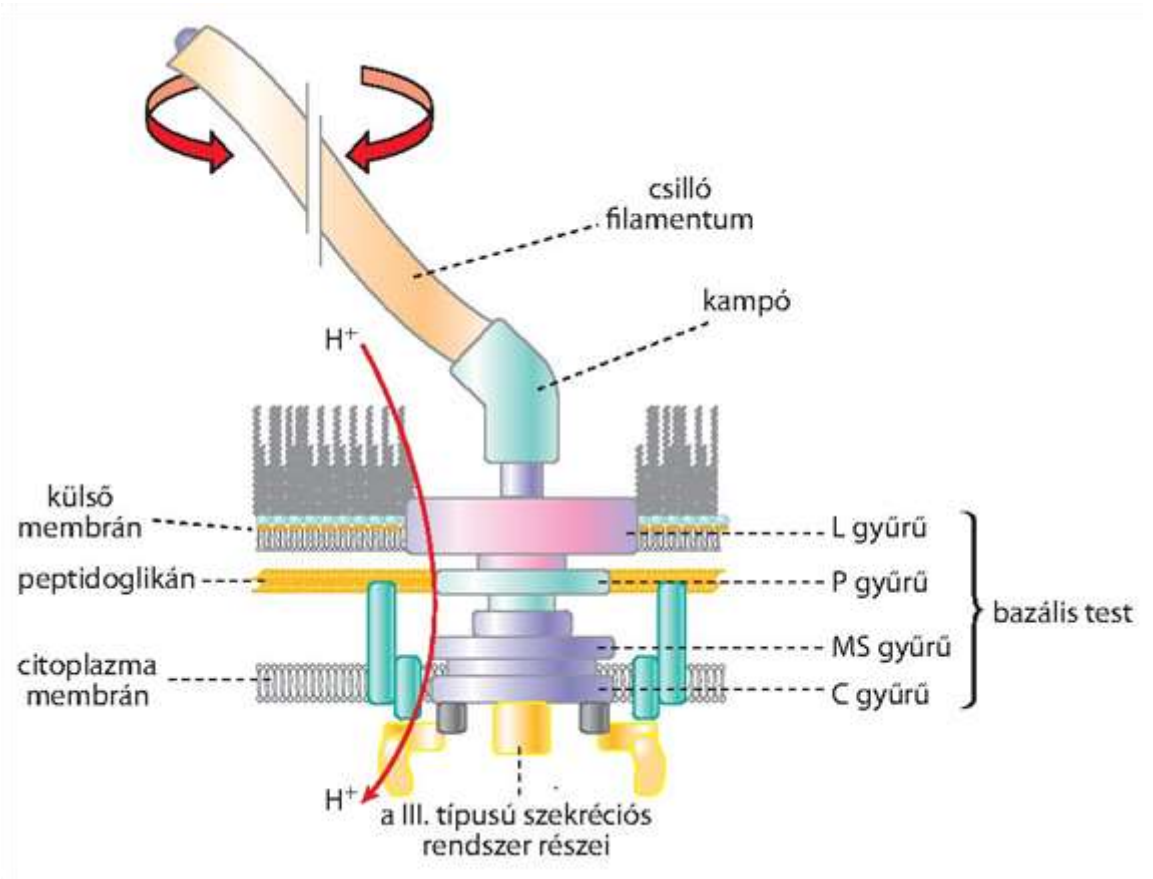
A csillók rotáló mozgását egy, a sejtmembránban elhelyezkedő, mintegy 30 kromoszomális gén összehangolt kifejeződését igénylő szerkezet teszi lehetővé, mely talán az egyik legösszetettebb bakteriális struktúra**.**

A csilló – a baktériumok „propellere"

A szerkezet három nagyobb alegységből áll: a *csilló filamentumból*, a *bazális testből*, melynek különböző gyűrű alakú fehérjéi az egész szerkezetet a sejtburok különböző elemeihez kötik, és amely egyben tartalmazza a „forgórészt" is, és a kettőt összekötő, a tengely irányának megtörést biztosító *kampóból* (**2.1.13. ábra)**. A rendszerhez alulról egy ún. *III. típusú, a csillók fehérjéire fajlagos szekréciós rendszer* elemei kapcsolódnak, melynek a csillók szintézisében van szerepe. A mozgás során az attraktánsok és repellensek koncentrációjára válaszként foszforilálódik egy regulátor fehérje (CheY), mely csak ebben a formában tud kötődni a kapcsoló proteinhez (FliM). Ennek hiányában a csilló forgása az óra járásával megegyező, ami bukfencezéshez vezet.

Függetlenül a kérdésben elfoglalt személyes álláspontunktól a szerkezet bonyolultságát mindenképen jelzi, hogy az élővilág kialakulásával és fejlődésével kapcsolatos vitákban az ún. *Értelmes Tervezés (Intelligent Design)* elméletének követői gyakran hozzák fel ezt példaként, mint olyan komplex struktúrát, melynek minden eleme szükséges a működéshez, és amelyről emiatt nehezen elképzelhető, hogy lépésenként, alkotórészenként, a természetes szelekció útján fejlődött volna ki. (Az elmélet ellenzői szerint ugyanakkor számos példa

hozható a rendszer egyes összetevőinek létező analógjaira, melyek viszont igazolnák az evolúció révén történő kialakulás lehetőségét).



2.1.13. ábra. A baktériumok csillójának szerkezete

A csillófehérjék elleni *immunválasz* hozzájárulhat a szervezet védelméhez. Nem véletlen, hogy egyes kórokozók képesek *csillóik antigenitását megváltoztatni*. A legtöbb salmonella szerovariáns csillója két, eltérő antigenitású ún. „*fázisban*" létezik egymással alternáló módon. A csillófehérjék *antigenitásának meghatározása* része a motilis bélbaktériumok szerológiai tipizálásának, illetve a H antigén elleni *immunválasz detektálása* segíthet az etiológia tisztázásában (pl. hastífusz).

A csilló nélküli mozgásformák között a legjelentősebb a spirális baktériumok által mutatott csavarmozgás, melynek morfológiai alapjai a baktérium periplazmikus terében, tehát nem a felszínükön elhelyezkedő, a hossztengely mentén a mikrobára felcsavarodó ún. *endoflagellumok*, melyekről részletesebben az e kórokozókat tárgyaló fejezetben olvashatunk.

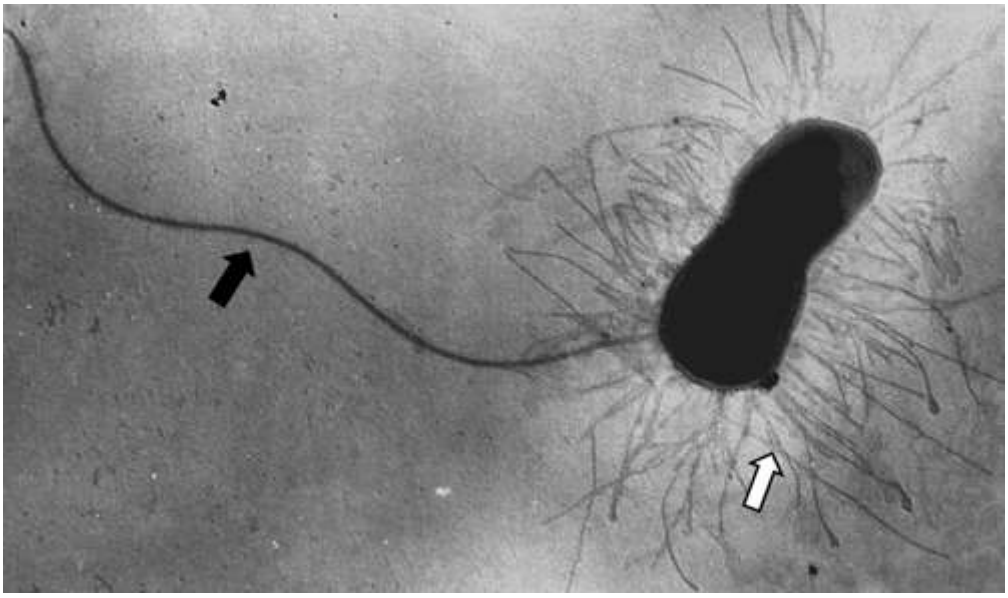
A csilló nélküli mozgásnak számos további formája alakult ki. Egyre növekvő számú organizmusról derül ki, hogy sejtjeik képesek szilárd felszíneken *csúszó mozgásra (gliding)*. Ma már tudjuk, hogy nem egységes mozgásformáról van szó. Az ún. *rángatódzó („twitching")* mozgás során, melyet többek között egyes *Pseudomonas aeruginosa, N. menigitidis* és *Clostridium perfringens* törzseknél is megfigyelhetünk, a sejtekből polárisan, ún. *IV típusú pilusok* nyúlnak ki, tapadnak a felszínhez, majd visszahúzódva mozgatják a sejtet. Érdekes, hogy ez a mozgásforma akkor a leghatékonyabb, ha a baktériumsejtek csoportosan, kommunákat alkotva helyezkednek el. Más fajok sejtjei egyik *pólusukon a*

felszínhez tapadva, mintegy horgonyozva a sejt hossztengelyét rotálnak így tolva a sejtet előre. Ismét mások esetén felmerült, hogy képesek a sejt egyik pólusán hidratált szénhidrátokat szekretálni, és ezen mintegy magukat *előre nyomni*. A sejtfal nélküli mycoplasmák csúszó mozgása során felvetették „*molekuláris lábacskák*" meglétét, melyek a felszínhez való tapadás után létrejövő konformáció változás révén „lépegetnének". Szintén ennél a fajnál feltételezik, hogy a sejt egyik pólusán azt a felszínhez horgonyzó, illetve onnan leváló adhezineken húzná magát a sejt előre *kontraktilis citoszkeletonja* révén. Bár e mozgásformák – szemben a korábbi vélekedéssel – meglehetősen elterjedtek, és rámutatnak, (a korábbi elképzelésekkel szemben) több baktériumsejt poláris jellegére, jelentőségük, különösen a betegséget okozó képesség tekintetében még nem tisztázott.

Különös, és a virulenciát meghatározó formája a mozgásnak egyes fakultatív intracelluláris, tehát bizonyos célsejteket megfertőzni képes baktériumok (shigellák, *Listeria monocytogenes*)*intracelluláris haladása*. E mikrobasejtek az egyik pólusukon elhelyezkedő felszíni fehérjéik révén polarizálják a gazdasejt aktinját, mintegy üstökös szerű „*polarizált aktin farkat*" alkotva, mely a hígabb környezetben előre felé löki a mikrobát.

Fimbriák, pilusok

A baktériumok szilárd felszínekhez történő tapadását, adhéziójában több sejtalkotó (tok, külső membrán fehérjék, esetleg csilló) játszhatnak szerepet, de e tekintetben a legfontosabbak az ún. *fimbriák*vagy*pilusok*. Ezek vékony, csak elektronmikroszkóppal látható, kevés kivételtől eltekintve rigid, szőrszerű nyúlványok, melyek az adott fimbriára jellemző *pilin alegység* fehérjék polimerjéből állnak (**2.1.14. ábra**).



2.1.14. ábra. Fimbriák. Escherichia coli sejt transzmissziós elektronmikroszkópos képe. A fehér nyíl a sejtet körülvevő rigid fimbriákat mutatja. A fekete nyíl egy monotrich csillót jelez. Prof. Emődy Levente felvétele

Nem ritka, hogy a fimbria végén néhány kisebb alegység helyezkedik el, melynek komformációja biztosítja a tényleges kapcsolódást a különböző receptorokhoz, azaz meghatározza a fimbria *receptor-specifitását*. Ennek jelentőségét nehéz lenne túlbecsülni, hiszen ez határozza meg, hogy a baktérium milyen receptorokhoz, azaz milyen sejtekhez tud

kapcsolódni eldöntve gyakorlatilag a mikroba által okozott fertőzés *faj, szerv vagy éppen korspecifitását*. A receptorspecifikus kapcsolódás mellett a fimbriák alakjának (a sejt felszínéből messze kinyúló „pálca") is jelentősége van: segítségével áthidalható az egyes sejtek (azaz a baktérium és a célsejt) között esetleg fennálló fizikokémiai erőkön alapuló taszítás. Az így a sejt közvetlen közelébe kerülő baktérium már esetleg nem fimbriaszerű adhezinjeivel is tud a sejt receptoraihoz kapcsolódni.

A fimbriák genetikai információja lehet kromoszomális és plazmid eredetű. Egy baktérium többféle fimbriát is kifejezhet, nem ritkán váltogatva azokat az éppen aktuális környezeti ingerek szerint. A fimbriák osztályozását, nevezéktanát tekintve meglehetős káosz uralkodik. Létezik elektronmikroszkópos morfológia alapján történő besorolás, receptor szerinti osztályozás, funkciók szerinti kategorizálás – sok esetben egymástól függetlenül. Az első, valóban jól tanulmányozott, és nagyszámú fajon megtalálható fimbriák mannóz rezidiumokat tartalmazó receptorokhoz kapcsolódtak. Elterjedtségük okán ezeket ma is *„közönséges", common, I. típusú*, vagy – tekintve, hogy receptorhoz való kapcsolódásuk mannózzal gátolható – *mannózérzékeny fimbriáknak* nevezzük. Gyakran megtalálhatóak nem kórokozó mikrobákon is, de ugyanakkor több patogén betegséget okozó képességét elősegítik. Mára kiderült, hogy számos altípusuk ismert, melyek képesek különböző mannóztartalmú struktúrák között különbséget tenni, így lehetséges, hogy egyes fajtáik fontos szerepet játszanak pl. az *E. coli* által okozott hugyúti fertőzések kezdetén (lásd ott), míg mások inkább a normál flóra tapadását segítik.

Kezdetben az összes többi fimbriát „*mannóz rezisztensnek*" neveztük, mivel receptoruk nem mannóz volt. Ma már e fimbriák száma igen nagy, rendkívül változatos specifitással. Közülük több a mikroba megbetegítő képessége szempontjából döntő fontosságú *kolonizációs faktor,* ami meghatározhatja a gazdafajlagosságot és a szervrendszer-fajlagosságot is. Ilyen pl. az emberi húgyúti fertőzéseket okozó *E. coli* törzseken fellelhető, az uroepitélen is kifejeződő P vércsoport antigént felismerő *P fimbria,* az enterotoxikus *E. coli* törzsek kolonizációs faktorai (*K88*-malacban, *K99*-borjúban, *CFA-fimbriák*-emberben) vagy a *N.gonorrhoeae* pilusai.

Különleges morfológiájú fimbriák az ún. *curli fimbriák*, melyek erősen göndörödő sűrű hajhoz hasonlóak, a baktériumnak rendkívül hidrofób jelleget biztosítanak. Szerepük lehet több kórokozó *biofilm képzésében* (lásd később). Érdekes, hogy egyes mikrobák esetén csak jóval a testhőmérséklet alatt fejeződnek ki, felvetve szerepüket a környezetben való túlélésben.

Bár elektronmikroszkóppal jól láthatóak és szerológiailag is kimutathatóak, a fimbriák jelenléte legegyszerűbben az ún. *hemagglutinációval* vizsgálható. Ha a baktériumot olyan fajtól származó, illetve vércsoportú vörösvérsejt szuszpenzióval keverjük, ahol a sejtek felszínén a fimbria receptorának megfelelő kémiai szerkezet, cukor megtálalható, a baktériumok a vörösvérsejtekhez is hozzátapadnak, egy szabad szemmel is látható térhálót, hemagglutinációt hozva létre.

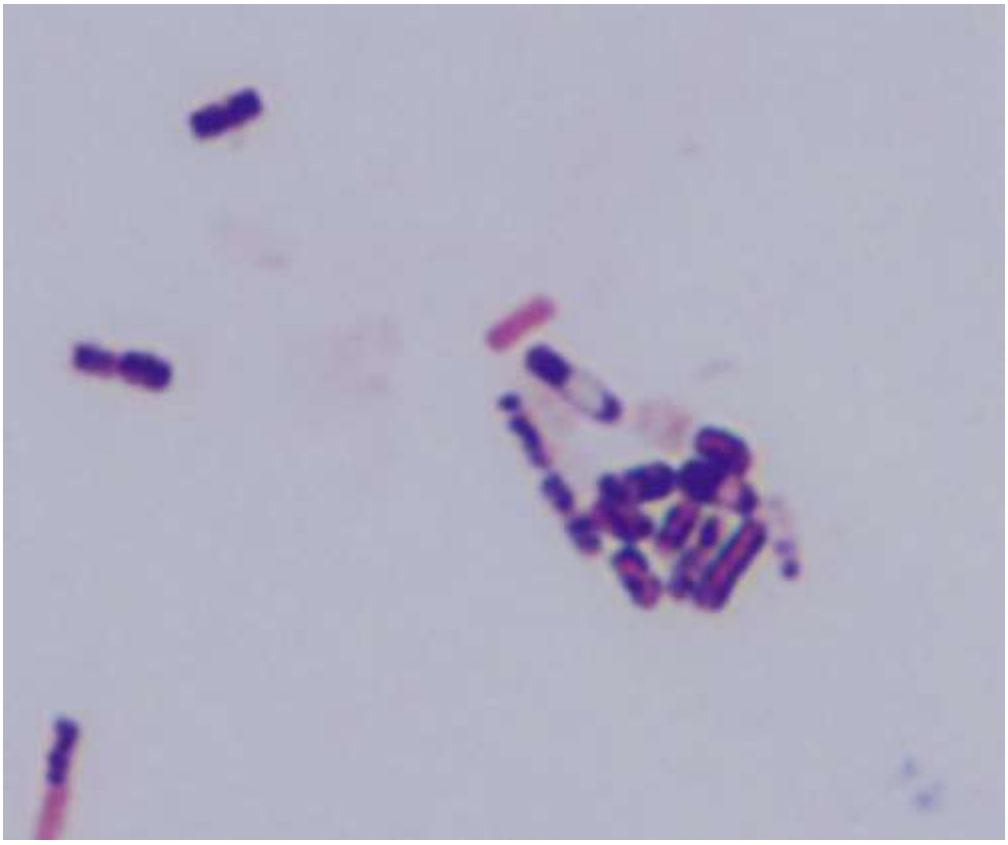
A fimbriák általában *jó antigének*. Tekintve adhézióban betöltött, így a fertőzések patogenezisében meghatározó szerepüket, érthető, hogy miért tartalmaz számos kísérleti vakcina fimbria alegységeket.

Az adhéziós fimbriákhoz hasonló morfológiával rendelkeznek egyes baktériumoknál a tévesen *sex pilusoknak* nevezett fimbriák. Ezek a genetikai anyag egyik sejtből a másikba

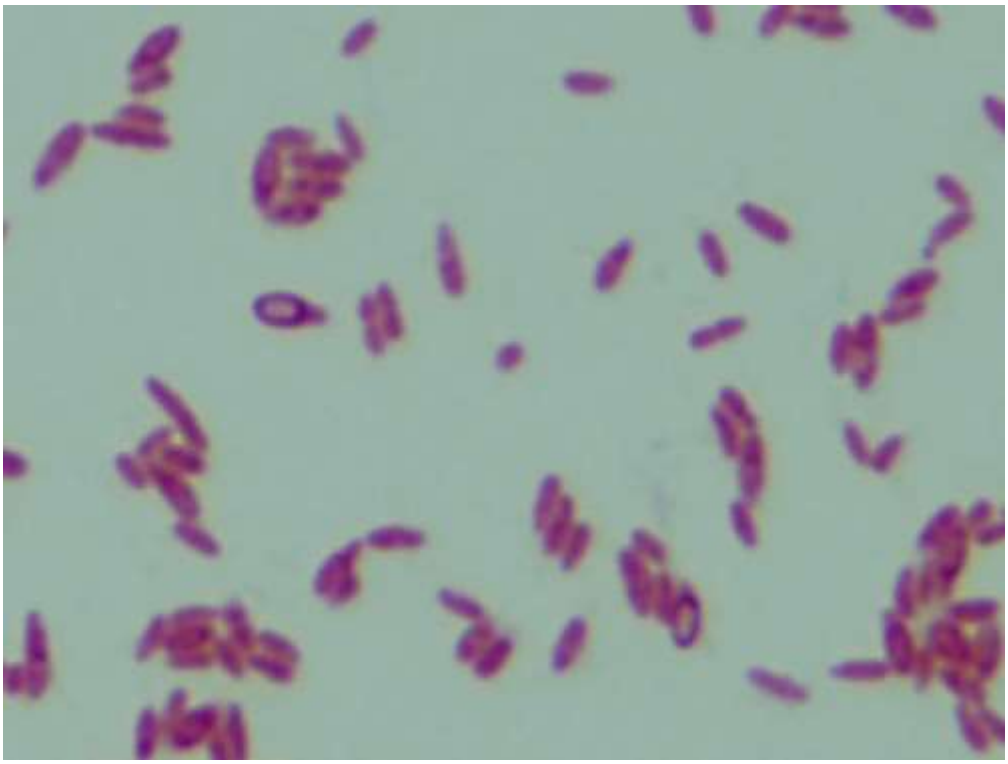
történő átvitelének egy speciális módja, az ún. *konjugáció* során biztosítják két sejt között a kapcsolatot (részletesebben lásd a Genetikai fejezetet).

Endospórák

Néhány, az orvosi gyakorlatban fontos Gram-pozitív mikroba, a *Bacillus* és *Clostridium* fajok képesek egy jellegzetes „átmeneti túlélési életforma” a spóra kialakítására. Szemben a gombáknál ismert szaporító spórákkal, a baktériumok spórái a sejten belül keletkeznek, ezért *endospóráknak* hívjuk őket (**2.1.15. ábra**).



2.1.15. a. ábra. Baktériumspórák. A: subterminálisan elhelyezkedő, ovális, a sejtet nem kidudorító spóra, B: terminális, a sejtet jelentősen deformáló ovális spóra



2.1.15. b. ábra .

Fontos, hogy az endospórák nem a reprodukciót, hanem a sejt, a faj túlélését szolgálják kedvezőtlen környezeti körülmények között. Orvosi jelentőségüket egyrészt az adja, hogy a spórák rendkívül fertőző képesek, általában sokkal inkább azok, mint az adott fajok vegetatív sejtjei. Másrészt ellenálló képességük révén sokszor állítják nehéz feladat elé a fertőtlenítést végző szakembereket.

Amennyiben az ún. *vegetatív sejt* számára a környezetben megfogyatkoznak a tápanyagok (az exponenciális növekedés végén, illetve a stacioner fázis elején, lásd később), beindul a *sporuláció*. Bonyolult regulációs mechanizmusok eredményként megindul a spóra képzés, mely kezdetben némileg hasonlít a sejtosztódás során létrejövő szeptum kialakulására. A kromoszóma teljes megkettőződése után a fajra jellemező helyen (centrálisan vagy a sejt egyik végén) a sejt egy része mintegy lefűződik úgy, hogy a kromoszómát és némi citoplazmaállományt számos réteg vesz körül. A belső állomány gyorsan *dehidrálódik*, belőle alakul ki a *„mag”*, mely tartalmazza a kromoszómát, a fehérje szintetizáló, és a glikolízishez szükséges enzimrendszert. Vízben nagyon szegény és nagy mennyiségben tartalmaz *Ca-dipikolinátot*. A magot számos védőréteg veszi körül. Belülről kifelé haladva a *sejt membrán, a spóra fala,*a peptidoglikán tartalmú*kéreg, a külső membrán* (nem tévesztendő össze a Gram-negatívok hasonló nevű szerkezeti elemével), *egy fehérje burok* és az ún. *exosporium*. Mindeme rétegek megléte, a mag alacsony víztartalma, illetve a spórák minimális metabolikus aktivitása biztosítják rendkívüli ellenálló képességüket a környezet hatásaival (hő, UV sugár, kiszáradás), illetve a táplálékhiánnyal szemben. Több faj spórája még a főzést is elviseli néhány percig, a *Bacillus anthracis* spórája pedig a talajban évtizedekig, egyes feltételezések szerint évszázadokig életképes marad.

Amennyiben a külső feltételek ismét kedvezővé válnak a mikroba számára, megindul az egy spórából egyetlen vegetatív sejt kialakulásához vezető *germináció*. A germinációs szignálokat kevéssé ismerjük, szerepe lehet pl. egyes aminosavak környezetben való jelenlétének. A spóra

elveszíti hőrezisztenciáját, védőburkai hidrolizálódnak, a spóra rehidrálódik. Komplex regulációs mechanizmusok eredményeként indul meg a nukleinsavak és fehérjék szintézise, a növekedés, azaz a vegetatív sejtté alakulás, majd a *szaporodás (outgrowth)*. Ez a folyamat zajlik le a spórákkal szennyezett sebekben a *tetanus* vagy *gázödéma* kialakulásakor, vagy az emésztőtraktusban a csecsemőkori *botulizmus* létrejötte során. A spórával szennyezett élelmiszerben kialakuló vegetatív alakok toxintermelése okozza a felnőttkori botulizmust.

Diagnosztika szempontjából fontos bélyeg a spóratermelés kimutatása, a spóra alaki és elhelyezkedési tulajdonságainak figyelembevétele. A vegetatív sejtben már éppen megjelent, képződő spóra a szokásos festések során a sejtben nem festődő területként megfigyelhető (lásd fent 2.1.15. ábra), illetve speciális spórafestéssel tehető láthatóvá. A fajra jellemzően a spóra alakja lehet *gömb vagy ovális* alakú, a vegetatív sejtben elhelyezkedhet *centrálisan* (*clostridium – orsó*), *terminálisan* (*plectridium – dobverő*) vagy *szubterminálisan.* A bacillusok spórái általában *nem deformálják* a sejtet, míg a clostridium sejteket anagyobb spóra *kidomborítja.*

A legellenállóbb spórák (*Bacillus stearothermophilus*) felhasználhatók sterilezési eljárások (pl. autoklávozás) hatásosságának ellenőrzésére.

A baktériumok energiatermelése, tápanyagigénye és növekedése

Az élőlények a *katabolikus* reakcióik révén termelik elsősorban ATP formájában tárolt energiájukat, illetve a termelt energia felhasználásával, az *anabolikus* folyamatok során, saját sejtalkotóikat építik fel. A katabolikus és anabolikus reakciók együtt jelentik a *metabolizmus* egészét.

Az energia termelése a *fototróf* baktériumokban fényenergia felhasználásával, míg a *kemotróf* élőlényekben kémiai anyag oxidálása révén történik. Az ehhez szükséges elektron donor lehet szervetlen (ezek az élőlények a *litotrófok*), vagy szerves anyag (ezek az *organotrófok*). Amennyiben a tápanyagként szükséges szénforrás szervetlen, azaz a sejtek saját komplex molekuláikat képesek CO_2-ből kiindulva szintetizálni, *autotróf organizmusokról* beszélünk, míg másoknak ehhez eleve szerves széntartalmú molekulákra van szükségük (*heterotróf sejtek*). Az orvosi szempontból fontos mikrobák *kemorganotróf-heterotróf*, azaz energiájukat szerves anyagok oxidálásával termelő, szerves szénforrást igénylő sejtek, így a továbbiakban velük foglalkozunk. Ezek egy alcsoportját képezik a *paratróf* mikrobák, melyek egyes metabolikus folyamataikat tekintve valamely gazdasejt reakcióira vannak utalva, tehát szaporodni csak e sejt citoplazmájában tudnak. Ezen *obligát intracelluláris mikrobák* között számos fontos kórokozó található (pl. rickettsiák, chlamydiák).

A molekulák bejutása a sejtbe

A táplálékkal felveendő makromolekulák lebontása a termelt enzimek révén már a sejten kívül megkezdődik, a sejtmembránon keresztül csak kisebb molekulák jutnak át. E molekulák felvételének számos módja lehetséges. *Egyszerű diffúzióval* gyakorlatilag csak a szén-dioxid, víz és oxigén jut be a baktériumsejtbe. A *facilitált diffúzió* során a sejt membránjában helyet foglaló, a bejuttatandó molekulára specifikus hordozó fehérje *(carrier*) viszi a szubsztrátot a membrán egyik oldaláról a másikra. Ezen a módon juthat be például a glicerin az *E. coli* sejtbe, de a facilitált diffúziónak főleg az anaerob baktériumok (lásd később) bizonyos táplálékainak felvétele, és a keletkezett fermentációs termékek sejtből való eltávolítása során is jelentős szerepe van. A folyamat nem igényel energiát, így csak a koncentráció gradiensnek

megfelelő irányban haladhat. Az *aktív transzportban* szintén egy *hordozó molekula* játszik szerepet, azonban itt a transzport koncentráció gradiens ellenében is mehet, amihez természetesen már az ATP hidrolíziséből vagy egy proton grádiensből származó energia is szükséges. Az aerob (lásd később) baktériumok között ez a leggyakoribb transzport mechanizmus. A két membránnal is rendelkező Gram-negatív baktériumok esetén a folyamat rendkívül összetett. Ha a külső membrán porinok alkotta csatornáin át is diffundál a molekula, számos esetben már a periplazmikus téren való átjutáshoz is hordozó molekulára van szükség, melytől azt aztán a belső membrán transzport fehérjéje veszi azt át és juttatja végül a citoplazmába. A *csoportáthelyezés* főként oxigén hiányában gyakori módja a transzportnak. Ennek során a szállítandó molekulák (pl. a glükóz) kémiai változáson esnek át, foszforilálódnak, és a citoplazmába már a foszforilált származék kerül.

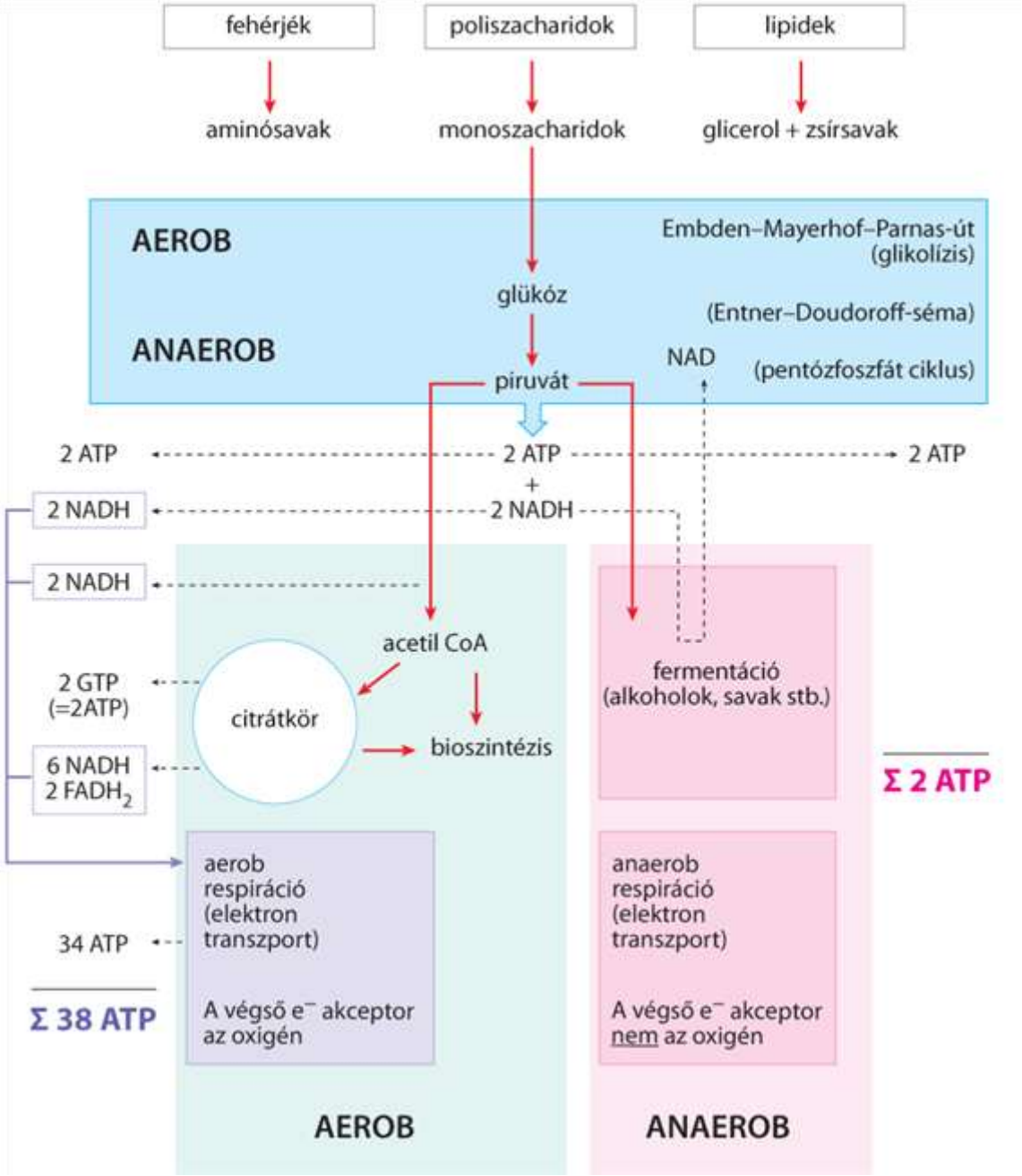
Bizonyos fémionok – orvosi szempontból főleg a vas bír jelentőséggel – szállítása különleges módon történik. A baktériumok számára, bár igen kis mennyiségben, de szükség van Fe3+ ionokra, ami a környezetben többnyire rendelkezésre is áll. A gazdaszervezeten belül viszont általában olyan kicsi a különböző vaskötő fehérjék (traszferrin, laktoferrin) miatt a szabad Fe3+ koncentrációja, hogy az nem elegendő a mikrobák szaporodásához. Azok a baktériumok, melyek ilyen körülmények között is képesek szaporodni, olyan vas-kelát képzőket (ún. *szideroforokat*) termelnek, melyek affinitása a vashoz még ezen fehérjékénél is nagyobb, így „lelopják” a vasat e fehérjékről. Ezután a vasat megkötött szideroforo molekula a baktérium specifikus külső membrán receptoraihoz kötődve juttatja a vasat a sejten belülre. A két legjobban ismert szideroforo, az *aerobaktin* és *enterokelin* virulencia faktorok.

A baktériumok katabolizmusa

A zsírok, fehérjék, poliszaharidok lebontásából származó kisebb molekulák egyaránt képesek belépni a katabolikus rendszerbe. Az energiatermelés szempontjából a legnagyobb jelentősége a cukrok lebontásának van, mely részben másként, és jelentősen eltérő energia termeléssel történik aerob és anaerob körülmények között.

Energiatermelés a baktériumokban

Az első lépés, azaz a glükóz piruvátig történő lebontása a baktériumokban úgy oxigén jelenlétében, mint anélkül végbemehet **(2.1.16. ábra)**.



2.1.16. ábra. A baktériumok energiatermelése

Ez a *glikolízisnek* nevezett folyamat a mikrobák többségében általában az *Embden–Mayerhof–Parnas* úton történik, melynek során nettó 2 ATP molekula és 2 NADH molekula termelődik glükózonként. Egyes mikrobákban e folyamat mellett (vagy helyett) más lebontási utak is léteznek, így a glükóz-piruvát átalakulás során mindössze 1 ATP molekulát eredményező ún. *Entner–Doudoroff*, illetve a *pentózfoszfát útvonal*. Utóbbi jelentősége, hogy ennek révén nagymennyiségben képződnek a bioszintetikus folyamatokban fontos pentózok, illetve NADPH.

A képződött piruvát sorsa jelentős mértékben függ a mikroba oxigénhez való viszonyától, illetve az oxigén jelenlététől. *Oxigén hiányában*, (amennyiben a mikroba képes oxigén nélkül létezni, tehát *nemobligát aerob*), a fentiek jelentik az energia nyerésének legfontosabb útját. Ahhoz azonban, hogy a glikolízis folyamatosan végbemehessen, az annak során termelődött

NADH-nak vissza kell oxidálódnia NAD-dá. Ez a *fermentáció* lépései során történik meg, melynek révén a piruvátból a legkülönbözőbb, iparilag hasznos, illetve a mikrobák azonosítására is felhasználható végtermékek keletkeznek. Az alkoholos erjedés termékei a különböző alkoholok, de keletkezhet tejsav (pl. streptococcusok, több lactobacillus), vajsav (pl. clostridiumok), propionsav (propionibacteriumok), illetve többféle sav (tej-, ecet-, borostyánkősav), etanol, H_2 és CO_2 számos bélbaktérium (*Escherichia, Salmonella, Shigella*)esetén.

Vannak a fermentációnak olyan formái is, melyek nem kapcsolódnak a glikolízishez. Egyes clostridium fajok és más anaerob mikrobák képesek energiát termelni a proteolízis révén keletkező aminosavak, vagy szerves savak fermentálásával is, jóllehet, ezek energia hozadéka elmarad a piruvát oxigén jelenlétében történő átalakításáétól.

Oxigén jelenlétében az arra alkalmas mikrobákban (tehát melyek oxigén jelenlétében (is) képesek energiát termelni) a piruvát acetil-CoA-vá alakul (glükózonként 2 NADH keletkezése mellett). Az acetil-CoA egyrészt bioszintetikus folyamatok szubsztrátja, másrészt belép a *citrátkörbe* (*Krebs-ciklus*, vagy méltatlanul ritkán említett nevén *Szentgyörgyi–Krebs-ciklus*). A ciklus során, egy glükóz molekulára számítva 2 ATP-vel egyenértékű 2 GTP, 6 NADH és 2 $FADH_2$ képződik, melyek további oxidációja jelenti az energiatermelés leghatékonyabb módját.

A glikolízis, acetil-CoA termelés és a citrátkörben keletkezett NADH és $FADH_2$ molekulák oxidálása során az elektronok egy transzport láncon haladnak végig, miközben szabad energiájuk csökken. A végső elektronakceptor a légköri oxigén. Az így felszabaduló energia a membrán két oldalán egy proton gradienst, illetve elektromos potenciálkülönbséget hoz létre, melynek a kiegyenlítődése révén felszabaduló energiát alakítja az ATP-szintáz enzim ATP-vé. A *terminális oxidáció* vagy *elektrotarnszporthoz kötött oxidatív foszforiláció* révén 34 további ATP molekula termelődik, összességében tehát a glikolízis 2, és a citrátkör 2 szubsztrát szintű foszforilálódás során termelődő molekulájával az *aerob légzés, respiráció* nettó energia hozadéka glükóz molekulánként 38 ATP molekula, szemben az anaerob glikolízis/fermentáció 2 ATP-jével. E sok lépcsős folyamat enzimjei (pl. flavoproteinek, citokrómok stb.) a baktérium sejt sejtmembránjához, eukariótákban a mitokondrium membránhoz kötöttek.

Megjegyzendő, hogy hasonló, elektronok transzportján alapuló energiatermelés oxigén hiányában is létrejöhet, de ilyenkor a végső elektron akceptor nem az oxigén, hanem egyéb külső forrásból származó molekula, pl. szén-dioxid, szulfát vagy nitrát. Ilyenkor *anaerob respirációról* beszélünk, de ennek energia hozadéka elmarad az aerob folyamatétól.

A baktériumok és az oxigén

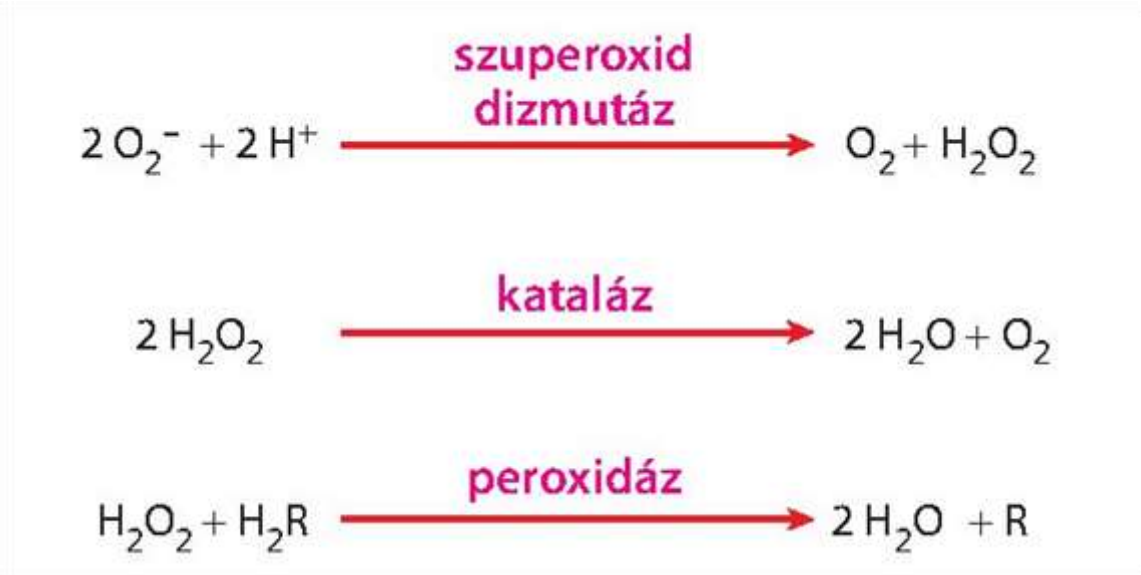
Azokat a mikrobákat, melyek csak az *aerob respirációra* képesek *strict, vagy obligát, azaz szigorúan aerob* baktériumoknak nevezzük. Ilyen, az orvosi gyakorlatban fontos kórokozók pl. a *Mycobacterium tuberculosis* vagy a *Pseudomonas aeruginosa*.

A mikrobák többsége (pl. *E. coli*) ún. *fakultatív anaerob*, azaz képes energiatermelésre mind az oxigén jelenlétében, mind annak hiányában. Esetükben, oxigén jelenléte nélkül, a glikolízis/fermentáció jelenti a legfontosabb energianyerési formát. Tekintve, hogy ez kevésbé hatékony energiatermelés, mint a légzés, a fakultatív anaerob baktériumok lényegesen jobban növekednek oxigén jelenlétében, mint annak hiányában. A diagnosztikai munkában fontos

teszt az ún. *oxidáció/fermentáció vizsgálata (az O/F teszt)* az aerob módon is szaporodó mikrobák esetén. Ennek során aerob és anaerob módon inkubált, glükóz tartalmú tápfolyadékban vizsgáljuk a mikroba szaporodását, azaz azt, hogy a két energianyerési forma közül melyikre, vagy mindkettőre képes-e a törzs elkülönítve a fakultaív anaerobokat az ún. nem fermentáló, obligát aeroboktól.

Az ún. *mikro-aerofil* baktériumok (pl. *Campylobacter jejuni*) képesek ugyan oxigén nélkül növekedni, számukra azonban a *csökkent oxigéntenzió* az ideális, általában megnövelt szén-dioxid koncentráció jelenlétében.

Az aerob energiatermelésre nem képes mikrobákat *anaeroboknak* hívjuk. Többségük glikolízis/fermentáció révén nyeri energiáját, bár számos közülük képes az anaerob respirációra is. Az ún. *strikt, vagy obligát anaerobok* (pl. *Clostridium botulinum*) nem csak hogy képesek oxigén nélkül élni, hanem az oxigén, a reaktív oxigén gyökök jelenléte egyenesen toxikus számukra. Ezek az aerob respiráció, illetve egyéb oxidatív folyamatok során állandóan képződnek a sejtben. Az aerob, fakultatív anaerob és aerotoleráns mikrobák képesek ezeket semlegesíteni a **2.1.4.17. ábrán** látható, az identifikálásban kiemelten fontosreakciók révén, míg az obligát anaerobok nem rendelkeznek *szuperoxid dizmutáz* és *kataláz,* illetve *peroxidáz* enzimekkel.



2.1.17. ábra. A reaktív oxigéngyökök semlegesítése

Az obligát anaerobok oxigénérzékenységének gyakorlati jelentősége, hogy abban az esetben, ha gyanúnk van arra, hogy a vizsgálati anyag ilyen kórokozót tartalmaz, külön gondot kell fordítanunk a minta beküldése és feldolgozása során a *légköri oxigén távoltartására*. Ellenkező esetben az oxigén az érzékeny mikrobákat néhány perc alatt elölheti, meggátolva a helyes diagnózis felállítását.

Néhány anaerob baktérium ún. *aerotoleráns* (pl. a *Streptococcus pyogenes*), melyek, aerob respirációra képtelenek lévén, oxigén jelenlétében is fermentálnak. Ezek tehát aerob módon is növekszenek (a gyakorlatban általában így is tenyésztjük őket).

A baktériumok anabolizmusa

Bár a bioszintetikus, anabolikus folyamatok nagymértékben hasonlóak minden baktériumban (lényegében minden élő sejtben), a baktériumfajok között fontos és jelentős különbségek vannak az egyes folyamatok megléte, illetve teljessége vonatkozásában. Miután mindazokat az élethez elengedhetetlen komponenseket, melyeket a sejt önmaga nem tud előállítani a külvilágból kell felvennie, a fajra jellemző anabolikus képességek határozzák meg a mikroba – azonosításukban remekül felhasználható – *tápanyagigényét*.

A *szénforrás* alapján történő osztályozásról (auto-, illetve heterotrófok) már esett szó e fejezetben. A legtöbb orvosi szempontból fontos mikroba *nitrogénforrásul* képes szervetlen, elsősorban a környezeti ammóniából, vagy ammónium sókból származó nitrogént felhasználni, azonban általában arra is képesek, hogy komplex, szerves nitrogénforrásokat deaminálja nak. Elsősorban a pillangósvirágúak gyökerein élő nitrogénkötő baktériumokra jellemző, hogy a légköri nitrogént képesek ammóniává redukálni.

A *szervetlen anyagok* közül a baktériumok foszfát- és szulfát- nátrium-, kálium-, kalcium-, magnézium- és mangánszükségletüket általában szervetlen sók formájában fedezik. Egyesekre, pl. a kobaltra csak nyomokban van szükség, míg a minimális, de igen lényeges vasszükséglet fedezésének módjáról már ejtettünk szót.

Bizonyos szerves metabolitok szintézisére egyes baktériumfajok, vagy törzsek képtelenek, azokat környezetükből kell felvenniük. Ezek lehetnek aminosavak, nukleotidok, kofaktorok. Amennyiben az igény a fajra jellemző, az jól kihasználható a diagnosztikai munkában is (pl. *a Haemophilus influenzae* NAD- és hemigénye). Számos kofaktorra, illetve vitaminra csak igen kis mennyiségben van szükség, ezeket *növekedési faktoroknak* nevezzük (pl. a nikotinsav, a B csoport vitaminjai stb.).

Az igény, azaz az adott komponens bioszintézisére való képtelenség lehet friss mutáció eredménye is, ilyenkor, szemben az eredeti, vad, ún. *prototróf* törzzsel, az új igénnyel fellépő mutánst az adott tápanyagra nézve *auxotrófnak* hívjuk (pl. metionin auxotróf).

A baktériumok szaporodása, a populáció növekedése

A baktériumok szaporodása szinte kivétel nélkül osztódással, két leánysejtté történő szétválással, ún. *bináris hasadással* történik. Bár a sejt osztódása előtt annak tömege, volumene némileg megnövekszik, a „*baktériumok növekedése*" kifejezés alatt általában a sejtek számának emelkedését, a tenyészet, a populáció „növekedését" értjük. Az osztódást tehát megelőzi a *sejt növekedése*, és a *kromoszóma* membránhoz kötött *replikálódása* (lásd a következő, Genetika alfejezetben). A sejt közepén egy, a hossztengelyére merőlegesen körbefutó, speciális fehérje komplexből álló gyűrű által kijelölt helyen indul meg az *osztódási szeptum* képződése. Értelemszerűen ehhez a sejtet határoló rétegek, a membrán, a peptidoglikán aktív szintézise szükséges, mely utóbbi speciális, tehát a normál peptidoglikán szintézistől eltérő transzpeptidázokat, penicillin kötő fehérjéket (PBP) igényel. Így alakul ki a két, majdan szétváló leánysejtet elhatároló, két réteg membránból és két réteg peptidoglikánból álló szeptum: tehát mindkét leánysejthez tartozik egy-egy réteg. Mint a baktériumok alakjának tárgyalásakor láttuk, az ismételten kialakuló szeptumok egymáshoz viszonyított síkja határozza meg a szét nem váló leánysejtek által alkotott csoportok elrendeződését (staphylococcus, streptococcus).

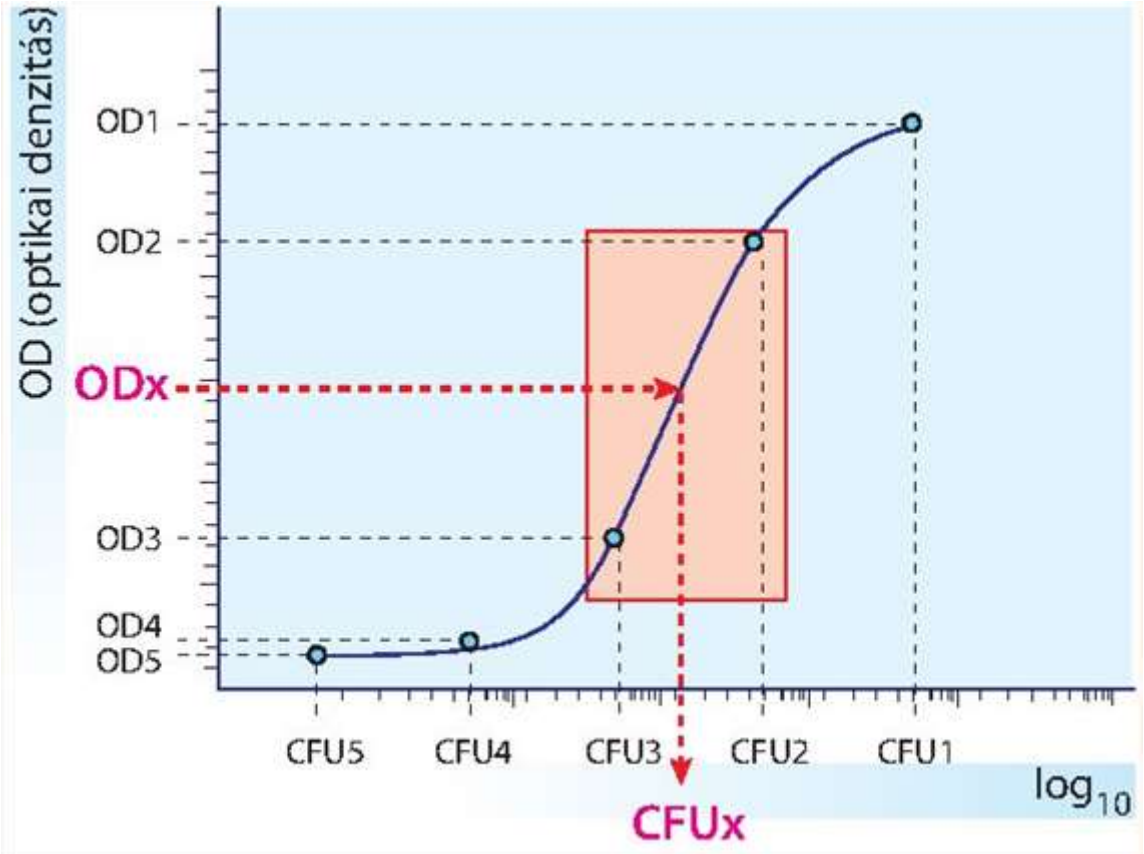
Folyékony tenyészetbe oltva a mikrobák elszaporodásával jelenlétük előbb-utóbb szabad szemmel is láthatóvá válik, a folyadék zavarossá válik. Az opacitás általában egyenletes, de

az idő múlásával a sejtek ülepedni kezdhetnek, a nagyon hidrofób felszínű sejtek látható módon aggregálódhatnak, vagy a levegőt igénylők esetleg a folydék-levegő határon az edény falához tapadnak, egyesek azon biofilmet (lásd később) képeznek. Szilárd táptalajon a szaporodás eredménye a *telepek* megjelenése.

A baktériumpopuláció *szaporodása fázisokban* zajlik. A folyamat elsősorban a folyékony táptalajokat egyenletesen zavarosító mikrobák esetén követhető jól az *optikai denzitás* mérésével.

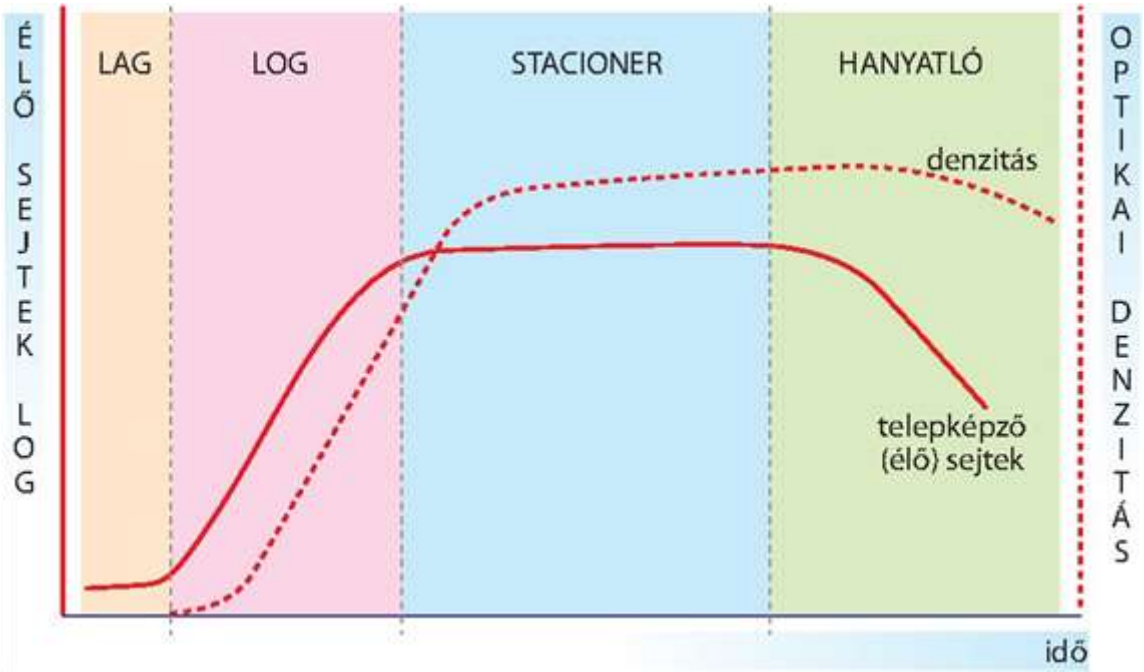
A baktérium sejtszám meghatározása

Fontos azonban tudnunk, hogy egy mikrobapopuláció mindig tartalmaz élő és elpusztult sejteket, és az utóbbiak szintén hatással vannak a szuszpenzió turbiditására. Az össz (élő és elhalt) sejtek számát az optikai denzitás (turbiditás) mérése mellett *mikroszkóposan*, számláló kamrában, esetleg automata sejtszámlálóval határozhatjuk meg. A jelenlévő élő sejtek számát, a *csíraszámot*, az ún. *telepképző egységek* (gyakori angol névvel: *colony forming units, c.f.u.*) számának megadásával fejezzük ki. A tenyészet megfelelő hígítása után meghatározott térfogatot (pl. 100 mikrolitert) szilárd táptalaj felszínén egyenletesen eloszlatva, inkubáció után megszámoljuk a keletkezett telepeket, majd az értéket a hígítás mértékével megszorozva megkapjuk a tenyészet élő csíraszámát. A mindennapi laboratóriumi gyakorlatban általában az optikai denzitási értékeket (melyek tehát a teljes sejtszámot reprezentálják) (**2.1.18. ábra,** OD1-OD2 stb.)a telepképző egységek (tehát az élő sejteket jelentő értékek) függvényében (**2.1.18. ábra,** CFU1, CFU2 stb.) ábrázoljuk fél-logaritmusos koordináta rendszerben. Az ismeretlen szuszpenzió denzitását mérve (**2.1.18. ábra,** ODx) a standard görbéről olvashatjuk le a sejtszámot mely, legalábbis a növekedés elején, még kevés elpusztult sejt jelenlétében, gyakorlatilag döntően az élő sejteket jelenti (**2.1.18. ábra,** CFUx). Az optikai denzitási értékek függenek a fajtól, sőt, a fajon belül a törzstől is. A legtöbb baktérium esetében folyadékban, szabad szemmel mintegy 106sejt/ml koncentrációt már észreveszünk (azaz egy folyadékban alig kevesebb, mint egymillió baktériumsejt jelen lehet milliliterenként, és azt még mindig kristálytisztának látjuk).



2.1.18. ábra. Optikai denzitás és telepképző egységek száma – standard görbe. OD= Optikai dezitás, CFU= Colony Forming Units (telepkéző egységek, élő sejtek száma/ml)

Amennyiben egy frissen beoltott folyékony tenyészetet vizsgálva a sejtszámot az idő függvényében ábrázoljuk, az ún. *növekedési görbét* kapjuk (**2.1.19. ábra**). A növekedési görbe négy, jól elkülöníthető fázisra tagolódik.



2.1.19. ábra. A baktériumtenyészet növekedési görbéje

Lag vagy*adaptációs fázis*során a baktérium sejtek „felkészülnek” az osztódásra. Érzékelik az adott környezetben rendelkezésre álló tápanyagokat, a jelenlévő fizikai paramétereket és metabolikus rendszerükben be-, illetve kikapcsolják az adott körülmények között szükséges géneket, megindul a szükséges enzimek termelése. Ha a sejt genetikai lehetőségei az adott körülmények között erre nem adnak lehetőséget (hiányoznak a szükséges gének) a sejt nem indul szaporodásnak.

Logaritmusos, log vagy exponenciális fázis alatt a sejtszám állandó mértékben, az idő és a sejtszám logaritmusa között lineáris összefüggést mutatva növekszik. Ez a leggyorsabb szaporodás ideje, a két osztódás között eltelő idő ilyenkor a legrövidebb. A *generációs idő* a két osztódás között eltelt átlagos időt jelenti. Bár jelentősen függ a körülményektől, a generációs idő többé-kevésbé jellemző a fajra. A legtöbb orvosi szempontból fontos mikroba esetén ez, ideális feltételeket biztosítva, 20–40 perc. Vannak ennél sokkal hosszabb generációs idejű fajok is, pl. a tuberkulózis kórokozója, ahol a két osztódás között eltelt idő mintegy 20 óra. Ennek gyakorlati következménye, hogy az ilyen kórokozók diagnosztikus célú kitenyésztéséhez lényegesen hosszabb idő, hetek kellenek, szemben a többi baktérium 18–24 órás idejével. A logaritmusos növekedés szinte hihetetlen „élőanyag” növekedést jelent. Ezt szokták illusztrálni az *E. coli* sejt példájával: Egyetlen sejtből, ha folyamatosan szabadon osztódhatna 20-25 percenként, 3 nap alatt a Föld tömegénél nagyobb baktérium tömeg jönne létre. Ez természetesen a gyakorlatban nem történhet meg, hiszen a tenyészet előbb-utóbb eléri a következő fázist.

A log fázis során a tenyészetből a tápanyagok elhasználódnak, a mikroba számára toxikus, a növekedést gátló termékek szaporodnak fel, illetve fizikokémiai változások (pl. pH-csökkenés) jönnek létre. Ezért a *stacioner fázisban* a generációs idő megnyúlik, a növekedés lelassul, és elér egy olyan szintet, ahol az osztódás már csak a pusztulás mértékével tart egyensúlyt. Ennek következtében a teljes csiraszám (élő és elpusztult sejtek) esetleges kismértékű növekedése mellett az élő sejtszám állandó. A sejtek többsége azonban egy bizonyos átmeneti állapotba kerül, bár él, és így telepképző, de nem osztódik. Úgynevezett *endogén metabolizmus* zajlik bennük, mely az élő állapot fenntartásához, esetleg bizonyos, a fajra jellemző biológiai aktivitáshoz elegendő, de a sejtek nem osztódnak. A sejtek morfológiája gyakran változik, főleg a Gram-pozitívok esetén a festődés bizonytalanná válik, és ennek a szakasznak az elején indul be az arra képes fajokban a spóraképződés is. A sejtekben intracellulárisan tápláléktároló polimerek halmozódhatnak fel. Ez alatt a fázis alatt termelődnek az ún. *másodlagos metabolitok*, melyek között számos antibiotikumot vagy egyes toxinokat találunk.

A hanyatló, deklinációs fázisban az osztódás mértéke már egyértelműen alacsonyabb a pusztulás mértékénél, így az élő sejtek száma csökken. Az össz-sejtszám lehet állandó (élő+elhalt sejtek, az utóbbi arányának növekedésével), de csökkenhet is az elpusztult sejtek feloldódása miatt, amennyiben a fajra jellemző az ún. *autolízis*, azaz az elhalt sejteket feloldó enzimek indukálása.

A fenti fázisok egy zárt tenyészetre jellemzőek, melyet beoltás után magára hagyunk. Amennyiben az egyes táplálékkomponenseket folyamatosan pótoljuk, esetleg a gátló anyagcseretermékeket eltávolítjuk, vagy éppen az elszaporodott sejteket folyamatosan kinyerjük, ún. *folyamatos tenyészeteket* hozunk létre. Ezek ipari méretű megvalósítása – megtévesztő kifejezéssel – a *fermentáció,* mely *fermentorokban, kemosztatokban* történik.

Ezek célja vagy a mikrobák, vagy valamely mikrobiális termék ipari méretekben történő előállítása. A paraméterek gondos megválasztásával, változtatásával a célnak megfelelően lehetőség van a tenyészet különböző, log vagy stacioner fázisban való tartására.

In vivo, a szervezet normál flóráját képező, vagy éppen azt fertőző mikrobák állapota egy, a táplálékforrás, és a szervezet védekező mechanizmusai által bizonyos fokig limitált, gyakran egymással kompetícióban álló mikrobákból álló folyamatos tenyészetnek tekinthető.

Élő, de nem tenyészthető állapot

Az utóbbi évek egyik érdekes felfedezése volt számos faj esetén az ún. *élő, de nem tenyészthető állapot* (*VBNC – Viable But Non-Culturable*) leírása. Bizonyos környezeti hatásokra egyes baktériumok olyan – különböző módszerekkel igazoltan élő – állapotba kerülhetnek, melyben ugyan *in vitro* körülmények között nem tenyészthetőek, de fertőzőképességüket megőrizhetik. (A jelenségnek semmi köze a spóraképzéshez!). Bár a megfigyelés, és a vele kapcsolatos elméletek nem mentesek még az ellentmondásoktól, jelentősége, főleg járványtani szempontból óriási lehet. Ilyen állapotban levő pl. kolera vibriokkal szennyezett vízminták a hagyományos módszerekkel vizsgálva mikrobamentesnek minősülhetnek, míg fertőzést változatlanul okozhatnak.

A mikrobiális szaporodás fizikai feltételei

A tápanyagigényen kívül a mikrobiális növekedésnek fizikai feltételei is vannak. Az aerob/anaerob növekedés tárgyalásakor már említettük az *O2, illetve CO2 igényt*. Az anaerobok tenyésztésénél a táptalaj alacsony *redoxpotenciálját* kell biztosítanunk. Erre lehetőség van redukáló ágenseknek (pl. tioglikolát) a táptalajhoz adásával, illetve a mikrobák oxigénmentes miliőben, ún. *anaerosztátokban* való inkubálása révén (E módszerekről a Diagnosztika és az anaerob baktériumokat leíró fejezetekben olvashatunk részletesebben). Amennyiben a tenyészteni kívánt organizmus az atmoszférás szintnél magasabb CO2 koncentrációt (pl. 5–10%), igényel (*Campylobacter, Brucella*) azt számára biztosítanunk kell. Az aerob – fakultatív anaerob baktériumok oxigénigényének pótlásáról folyékony kultúrában általában a táptalaj levegőztetésével gondoskodunk, amit legegyszerűbben a tenyészet folyamatos rázogatásával, ún. *rázóinkubátorokban* érünk el.

A legtöbb, orvosi szempontból fontos mikroba optimális *tenyésztési hőmérséklete* 37 oC körül van, ami nem meglepő, hiszen ezen kórokozók a melegvérű gazdaszervezet parazitáivá fejlődtek az evolúció során. Ennek alapján ezeket az ún. *mezofil* mikrobák közé soroljuk, melyek optimális növekedést 25 és 40 oC között mutatnak. 5 oC alatt csak viszonylag kevés patogén szaporodik, igaz ezekben az esetekben ezt azonosításukra, kimutatásukra fel lehet használni (ez az ún. *hidegdúsítás* pl. *Listeria, Yersinia* esetén), illetve ezen képességüknek járványtani következményei lehetnek (lásd hűtött ételben való növekedés).

Az optimális növekedést 20 oC alatt mutató baktériumok az ún. *psychrophilek,* melyek elsősorban víz- és talajlakó mikrobák. Közöttük humán megbetegedést okozókat nem találunk, jelentőségük inkább gazdasági, hiszen a hűtött ételeket szennyezve azok megromlását okozhatják. A *thermofilek* – szintén kevés orvosi jelentőséggel bíró mikrobák – a magasabb, 50 oC feletti hőmérsékletet preferálják. A termofil *Thermus aquaticus* terméke, a *Taq polimeráz* viszont a polimeráz láncreakción alapuló DNS diagnosztikai eljárások miatt széles körű alkalmazást nyert a mikrobiológiai laboratóriumokban is.

Ami a környezet *savasságát-lúgosságát* illeti, a legtöbb baktérium a minimálisan bázikus (pH 7.2–7.6) viszonyokat kedveli. Kivételt képeznek a kifejezetten savas értéket igénylő *acidofil* mikrobák, pl. a hüvely normál flórájaként a savas miliőt fenntartó *Lactobacillus*-ok, vagy az igen sav-érzékeny, alkalikus közeget kedvelő *Vibrio cholerae*.

A mikrobák különböző mértékben tűrik a *kiszáradást*. A gyakorlatban azonban a közönséges inkubátorokban rendelkezésre álló páratartalom elegendő, így külön párásításra legfeljebb csak hosszabb inkubációk során, a szilárd táptalajok kiszáradását megakadályozandó lehet szükség. Kifejezetten igényli tenyésztésekor a nedves közeget a *Helicobacter pylori*.

Az *ozmotikus viszonyokkal* szemben – sejtfaluk védőhatása miatt – a legtöbb mikroba meglehetősen toleráns, és 5% NaCl koncentrációt is elvisel. A sótűrés mértéke (*halofilia*) jellemző a fajra, felhasználhatjuk pl. különböző *Vibrio* fajok azonosítására, vagy a halofil *Staphylococcus aureus* szelektív kitenyésztésére. Vannak extrém halofil organizmusok, melyek bár nem patogének, a sóval tartósított ételek megromlását, vagy nyers bőrök elszíneződését és állagromlását okozhatják.

Ritkán a *fény* is szerephez jut a bakteriológiai diagnosztikában Az ún. *fotokromogén* mycobacteriumok – szemben a *scotokromogénekkel* – a fajra jellemző, diagnosztikus értékű pigmentet csak folyamatos fényexpozíció hatására termelik.

A baktériumok genetikája

A baktériumok *haploid* organizmusok, azaz mindössze egy génkészlettel rendelkeznek, bár az egyidejűleg több azonos kópiában is jelen lehet a sejtben. A *teljes genetikai információ, agenotípus* kizárólagos hordozója lehet a *kromoszóma,* de azt gyakran *extrakromoszomális DNS*-elemeken (plazmidokon, bacteriophagokon – lásd később) hordozott gének egészítik ki. A genotípus által meghatározott lehetőségek keretei között bonyolult regulációs mechanizmusok határozzák meg, hogy abból ténylegesen mi fejeződik ki, azaz, hogy mi a sejt *fenotípusa.*

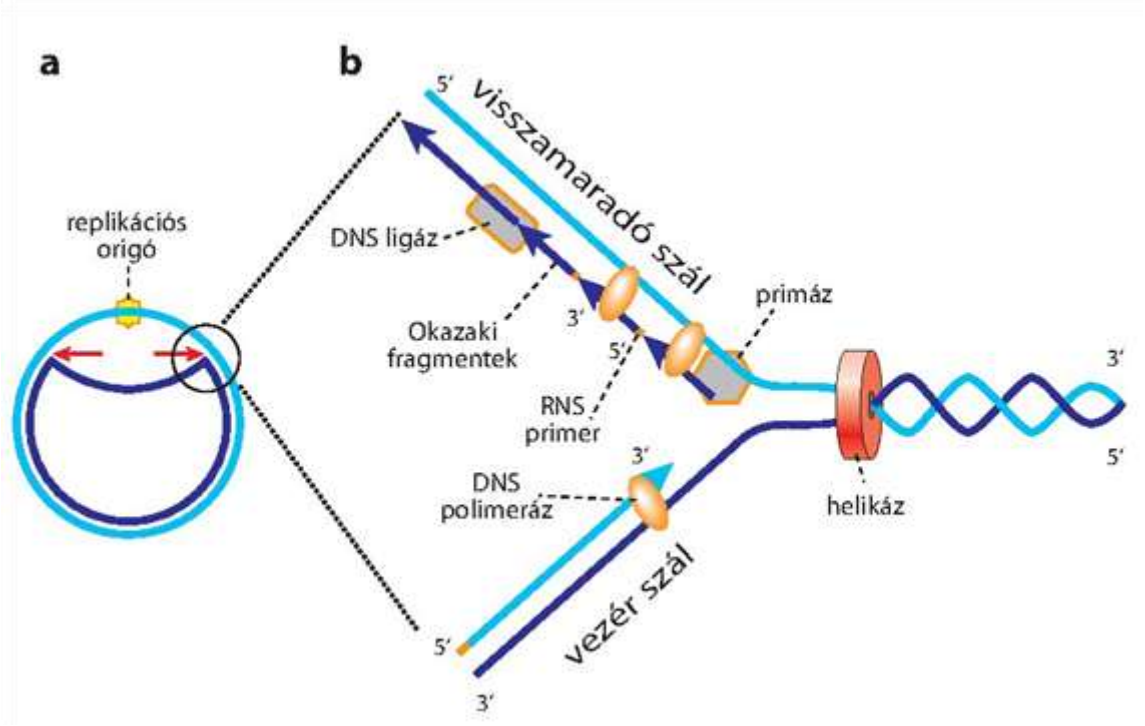
A bakteriális kromoszóma

Néhány ritka kivételtől eltekintve (pl. egyes borreliák) a legtöbb baktériumfaj kromoszómája *kovalensen zárt, cirkuláris, kettős láncú DNS-molekula*. Mérete fajtól függően 0,6 és 10 megabázispár (mbp, millió bázispár). A legkisebb kromoszómák egyike a mycoplasmákban található, mintegy 0,6 mbp, mely kevesebb, mint 500 gént kódol. Ezzel szemben egy átlagos *E. coli* K-12 törzs genomja mintegy 4,6 mbp, közel 4600 génnel. (Összehasonlításul: az emberi genom mérete kb. 3300 mbp, és több mint 20000 gént tartalmaz). A bakteriális kromoszóma a sejten belül szorosan „összepakolva”, a kettős DNS-spirál *szuperhelikális* formát felvéve helyezkedik el: az 1-3 mikron hosszú sejtbe mintegy 1,3 mm DNS-fonal (ez egy *E. coli* kromoszóma „kiteregetett hossza”) található. A szuperhélixeknek fontos szerepe van a replikáció és transzkripció, és így a gének expressziójának szabályozásában, a DNS más molekulákkal való kölcsönhatásában. Az ezt létrehozó enzimek (*topoizomerázok*) egyes antibakteriális szerek (quinolonok) támadáspontjai. A DNS-hez ún. *hisztonszerű fehérjék* kapcsolódnak, szintén regulációs feladattal. A kromoszómát – prokaryotáknál értelemszerűen – nem veszi körül maghártya, így azok nem sejtmaggal, hanem maganyaggal rendelkeznek, és nincs sejtmagvacskájuk.

A kromoszóma teljes replikációja *E. coli* sejtben mintegy 40 percet igényel, azaz ennyi idő alatt találkoznak a két félkör megtétele után a replikációs villák.

A bakteriális kromoszóma replikációja

A *cirkuláris kromoszóma replikációja* az ún. *ori* locusnál (*E. coli*-ban *ori*C) kezdődik (**2.1.20. ábra**, **A**).



2.1.20. ábra. A bakteriális kromoszóma replikációja. A piros nyilak a két replikációs villát jelölik. Magyarázatot lásd a szövegben

Egy enzim (*helikáz*) felnyitja a hélixet, majd a kettős spirál szálai helyileg szétválnak, és indul – egyszerre két irányban, a *két replikációs villában* – a DNS megkettőződése. Tekintve, hogy a DNS-függő DNS polimeráz működésének megkezdéséhez egy rövid primert igényel, a *primáz* enzim egy rövid RNS szakaszt szintetizál, majd megkezdődik a komplementer DNS-szálak szintézise. Lényeges, hogy a bakteriális DNS-polimerázok rendelkeznek a hibás átírást javító (*proofreading*) képességgel csökkentve a mutációk lehetőségét (nem úgy, mint az RNS polimeráz pl. az RNS vírusokban – lásd ezek rendkívül magas mutációs rátáját). A két replikációs villa mindegyikében a szintézis mind a két templát szálon 5'®3' irányban folyik. Az ún. *vezér vagy vezető szálon (leading strand)* a komplementer szál folyamatosan, míg a *visszamaradó szálon (lagging strand)* rövid fragmentumok (*az Okazaki-fragmentek*) formájában szintetizálódik, melyeket aztán egy DNS-ligáz köt össze folyamatos szállá (**2.20. ábra, B**).

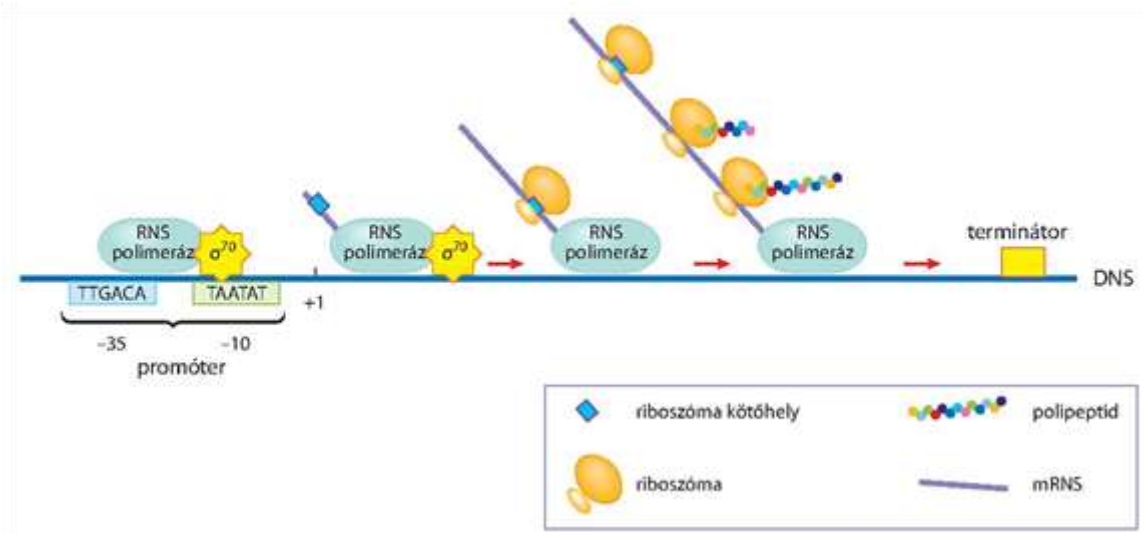
Tekintve, hogy nagy felbontású elektronmikroszkópos képen a köztes termék képe a görög théta (q) betűre emlékeztet, ezt a típusú kromoszóma megkettőződést *Théta típusnak* nevezzük.

A 40 perc mintegy kétszer olyan hosszú idő, mint az *E. coli* sejt gyors osztódáskor a generációs idő. A replikáció azonban az *ori*-nál újrakezdődik, mielőtt az első kör befejeződne, így végül megfelelő kromoszóma-kópiaszám áll rendelkezésre minden leánysejt számára. A többszöri replikációkezdés következménye az is, hogy a *ori*-hoz közel eső gének nagyobb összkópiaszámban vannak egyszerre jelen a sejtben. Nem véletlen, hogy számos olyan gén (pl. rRNS gének) találhatók az *ori* közelében, melyek termékeire nagy tömegben van a sejtnek szüksége. Megtörténhet az is, hogy a replikáció gyorsabb, mint a sejtosztódás, ilyenkor több, kettő-négy kromoszóma kópiával rendelkező sejtek jöhetnek létre.

Bár a *mRNS szintézise, illetve a fehérjeszintézis* alapelveiket tekintve azonosan zajlanak az eukaryotáknál megismertekkel, adódnak fontos eltérések.

Transcriptio és translatio a baktériumokban

A *bakteriális promóterek* két, az átírás start kódja előtt -10 és -35 bp távolságra található rövid szekvenciából állnak, és egy konszenzus bázis sorrend variációit képviselik. E promótereket ismerik fel az ún. *szigma (s) faktorok*, melyek a „core" RNS polimerázhoz kapcsolódva egészítik azt ki teljes, „holo" enzimmé meghatározva, hogy hol kell az enzimnek a DNS szálhoz kapcsolódnia a sikeres átírás érdekében (**2.1.21. ábra**).



2.1.21. ábra. Az átírás és átolvasás kapcsolata baktériumokban. Magyarázatot lásd a szövegben

A kapcsolódás erősségét a promóter „ereje", azaz bázis sorrendje határozza meg; egy erősebb, az enzimet jobban kötő promóterről sikeresebb az átírás. A baktériumokban többféle s faktor is van (lásd később), a legelterjedtebb a 70 kdal molekula tömegű s^{70}. Röviddel a mRNS szintézis megkezdése után a s faktor leválik a core enzimről, amely ezt követően már egyedül is képes folytatni az átírást egészen a gén végéig. Az átírás befejezéséhez egyes géneknél szükség van egy terminátor fehérjére, a *rhó (r) faktorra,* míg másoknál, ún. *rhó-independens termináció* történik. Ebben az esetben egy, a mRNS-ben szintetizálódó és hurokképzésre hajlamos szekvencia váltja ki a DNS-RNS polimeráz-mRNS komplex felbontását.

Míg az eukaryotáknál általában egy génről (annak intronjairól és exonjairól) készül egy mRNS, a prokaryotáknál gyakori, hogy egyszerre több, folytatólagosan elhelyezkedő gén íródik át egy folyamatos mRNS szálra, azaz ún. *policisztronos mRNS* képződik. A fehérjéket

kódoló szekvenciák, a *gének a prokaryoták döntő többségében folyamatosak*, azaz a kódoló szakaszokat nem szakítják meg az eukaryotáknál megismert nem kódoló intronok. Ezek hiányában természetesen a szintetizálódott mRNS -nek sem kell egy érési folyamaton átmennie, hogy a kivágott exonokból összeálljon az átolvasásra kész gén. A mRNS „vándorlására" sincs szükség, hiszen a maganyag, azaz az átírás helye nincs a maghártyával elválasztva a fehérjeszintézis helyétől. Sőt, *ekét folyamat a baktériumokban kapcsolt*: a még szintetizálódó mRNS „kész végén" már folyik a transzláció. Ráadásul ugyanahhoz a mRNS szálhoz egyszerre több riboszóma komplex is kapcsolódhat *poliszómákat* hozva létre, egyszerre több azonos fehérjeláncot szintetizálva (2.1.21. ábra). Mindezek a fehérjék nagy tömegben való gyors szintézisét teszik lehetővé, ami a baktériumokra jellemző gyors adaptáció elengedhetetlen feltétele.

Extrakromoszomális elemek

A baktériumok citoplazmájában jelen lehetnek extarkromoszomális, genetikai információt hordozó DNS-molekulák, ún. *episzómák*. Ez lehet *bacteriophag nukleinsav*, de legfontosabb képvislőik az ún. *plazmidok*. Döntő többségük, hasonlóan a kromoszómához, kovalensen zárt, körkörös, kettős láncú DNS molekula, bár ritkán, pl. borreliákban előfordulnak lineáris plazmidok is. Méretük igen széles határok, 1- >1000 kbp között változhat, azaz a legnagyobbak már meghaladják a legkisebb bakteriális kromoszómák méretét. Az orvosi mikrobiológiában fontos kórokozók legnagyobb plazmidjai 100–300 kbp tartományba esnek.

Túl azon, hogy a plazmidok a baktérium számára hasznos vagy egyenesen szükséges információt hordozhatnak, jelentőségüket az adja, hogy a genetikai információ horizontális terjedésének egyik alapját képezik. Az ún. *konjugáció* során (lásd később) átjuthatnak egyik sejtből egy másik, arra érzékeny sejtbe azt új genetikai információval gazdagítva.

A plazmidok replikációja

A plazmidok normálisan a kör alakú kromoszómánál megismert *„Theta-típusú" módon replikálódnak* (a konjugáció során mutatott, ettől eltérő replikációjukat lásd később). Ennek során a megkettőződés az ún. *„replikációs origo"* szekvenciánál kezdődik, melynek számos változata létezik. Az azonos origóval rendelkező plazmidok ugyanazon sejtben nem tudnak replikálódni: *inkompatibilisek*, más szóval *azonos inkompatibilitási csoportba* tartoznak. Különböző inkompatibilitási csoportokba tartozó plazmidokból többféle is jelen lehet egyazon sejtben. A plazmidok egy része ún. *szigorúan, „stringent" módon regulált replikációjú* plazmid, melyek megkettőződése többé-kevésbé kötött a kromoszóma duplikációjához. Ennek megfelelően e plazmidok sejtenkénti kópiaszáma alacsony (néhány vagy néhány tucat). A nagyobb méretű plazmidoknak általában alacsonyabb a kópiaszáma, a nagyon nagyoké közel áll a kromoszóma kópiaszámához. Főleg a kisebb plazmidok között sok ún. *relaxáltan regulált* plazmidot találunk, melyek a kromoszómától teljesen függetlenül replikálódnak. Ennek következtében sejtenkénti számuk a néhány százat is elérheti. Ha a plazmid replikációja lassúbb a kromoszóma replikációjánál, fokozatosan „kihígul" a leánysejtekből, *a plazmid elvész*. Erre különösen a törzsek mesterséges körülmények között való tenyésztésekor kerülhet sor, mikor nem biztosítunk a plazmidot hordozó sejtek számára szelekciós előnyt. A plazmidvesztés arányát fokozni lehet az ún. *plazmidtörlő anyagokkal*. Ezek mutagén anyagok, mint pl. az ethidium bromid vagy az akridin festékek.

A legtöbb plazmid funkciója nem ismert (de ez nem jelenti, hogy ne lenne fontos a sejt számára), ezeket *kriptikus plazmidoknak* nevezzük. Az ismert funkciójú, és orvosi

jelentőséggel bíró plazmidok közül a legfontosabbak *a virulenciaplazmidok* és a *rezisztenciaplazmidok.*

A virulencia plazmidok. A legkülönbözőbb patogénekre gyakorta jellemző, hogy fontos, akár a legfontosabb virulenciafaktoraik génjei mobilis genetikai elemeken, gyakran plazmidokon helyezkednek el. Számos adhéziós és inváziós faktor, toxin génjei találhatóak plazmidokon. Egyes esetekben olyan rendkívül komplex, több virulencia faktor koordinált kifejeződését igénylő fenotípus, mint pl. a shigellák hámsejt inváziós képességének információja teljes egészében plazmidon foglal helyet. Természetesen az e plazmidokat „elveszített" sejtek aviruelensekké válnak. Bár laboratóriumi körülmények között életben tarthatóak, természetes környezetükben, a gazdaszervezetben nem képesek megmaradni.

A rezisztencia (R) plazmidok. Orvosi szempontból kiemelkedő fontossággal bírnak az antimikrobás szerekkel, dezinficiensekkel, nehezfémsókkal szembeni ellenállást kódoló R plazmidok. Jelentőségüket az adja, hogy egyrészt a patogén mikrobák könnyen át tudják venni ezeket a plazmidokat egymástól, vagy az apatogén flóra tagjaitól, esetenként akár más genusba tartozó fajtól is. Másrészt gyakori, hogy az R plazmidok egyszerre több antibiotikummal szembeni rezisztenciát is kódolnak, így egy genetikai történés, a plazmid felvétele, alapvetően megváltoztathatja a kórokozó érzékenységét, és így a fertőzés kezelhetőségét.

A plazmidok egyszerűen láthatóvá tehetőek a sejtek lizátumát *agaróz gél elektroforézissel* szeparálva. Az elektromos erőtérben a plazmidok molekulatömegükkel fordítottan arányos sebességgel vándorolnak, és így egymástól szétválaszthatóak. A módszer alkalmas egy adott sejtben található plazmidok számának és molekulatömegének tanulmányozására, az ún. *plazmid-profil* meghatározására, pl. azonos fajba tartozó izolátumok járványtani kapcsolatának vizsgálatára. A plazmidoknak a *molekuláris biológiai munkában* betöltött, nehezen túlbecsülhető szerepét (lásd különböző vektorok, klónozás, expressziós vektorok) a korábbi, biológiai, biokémiai tanulmányaink során már megismertük.

A genotípus változása

Minden élőlényben, így a baktériumokban is, a fajra, illetve a törzsre jellemző genotípus egy folyamatos fejlődés, evoluciós folyamat eredménye. Igaz ez annak ellenére, hogy a sejt normális működése során számos olyan képességgel rendelkezik (pl. mutációkat javító mechanizmusok, restrikciós enzimek), melyek a változások ellen, a már „bevált" állapot, genetikai készlet fenntartása irányában hatnak. Erre azért van szükség, mert e változások többsége előnytelen, teher vagy egyenesen letális a mikroba számára. Ennek következtében az új változat csak akkor (és ott) tud tartósan fennmaradni, ha (és ahol) szelekciós előnnyel rendelkezik a populáció többi tagjával szemben. Az előny–hátrány kérdés lehet egyértelmű, de az is lehet, hogy egy, az adott környezetben előnyös tulajdonságnak „ára van, ami mégis megéri": például egyes antibiotikum rezisztencia mechanizmusok lassúbb növekedéssel járnak.

A genotípus változása létrejöhet *mutációk* révén és nagy ugrásokban, új gén vagy géncsomagok felvétele, a *gének horizontális átvitele* útján. A mutációk önmagukban nem lennének elegendőek az élővilágban tapasztalt változatok létrehozásához. Nehéz elképzelni, hogy egy komplex, több gén által kódolt rendszer kizárólag ilyen apró lépesek útján jönne létre, akkor, ha minden közbülső lépés eredménye csak akkor stabilizálódhat, ha egyrészt már önmaga is funkcionális terméket kódol, másrészt az jelent is némi előnyt (vagy legalábbis

nem hátrányos, nem csak teher). Ugyanakkor a két folyamat nem független egymástól. A felvett új gének, ha előnyösek az új gazda számára (pl. új adhéziós lehetőségeket teremtenek, vagy a környezet előnyös megváltoztatását teszik lehetővé egy új toxin által) azonnal működésre készek és stabilizálódnak, átörökítődnek. Lényeges, hogy egy újólag felvett gén terméke az új gazdában, a recipiensben nem feltétlenül kell, hogy tökéletesen ugyanazt a funkciót töltse be, mint amivel az régiben annak előnyt biztosított. Például egy talajban élő mikrobától felvett gén által kódolt anyag az eredeti gazda környezetében hathat elsősorban az ott jelenlévő egyéb mikrobákra, de egy másik (új) baktérium által termelve, annak jellemző környezetében már a megfertőzött gazdaszervezetre gyakorolt hatása miatt lehet előnyös. Egy adhezin a donorsejtben egészen más, az annak környezetében (pl. az állati szervezetben) jelenlévő struktúrákhoz kötődhet, míg egy új mikrobagazdában már az emberi sejt hasonló epitópokat tartalmazó receptoraihoz való tapadást segítheti. Gyakori, hogy egy antibiotikumot bontó enzimet kódoló gén egy környezeti baktériumban a talajban élő mikrobák által termelt vegyületeket bontja, míg bekerülve egy embereket kolonizálni képes fajba, az eredeti vegyületnek már a gyógyászatban is felhasznált változatai (azaz az antibiotikumok) ellen hat. A gének felvételét, a „nagy ugrást” követően már mutációk végzik, végezhetik a „finom hangolást”: a felvett géneknek új, az új gazda környezetének jobban megfelelő változatait létrehozva, melyek aztán rögzülnek, átörökítődnek. Ily módon fokozódhat egy enzim affinitása (új) szubsztrátjához, vagy például egy adhezin kapcsolódása (új) receptorához.

A genotípus megváltozásra jellemző, hogy mindig egyetlen sejtet érint, ha előnyős, öröklődik, és ritka kivételektől eltekintve (pl. egy pontmutáció reverziója) nem megfordítható. Természetesen az előnyös tulajdonságokkal rendelkező változat általában túlnövi az eredeti típust, előbb-utóbb akár a teljes populáció az új változat leánysejtjeiből áll majd. Fontos, hogy egy adott genotípus változás létrejötte független a környezettől és a mikroba „igényétől”: nem azért történik meg, mert a környezet „kikényszeríti”, vagy mert a mikroba számára előnyös. Létrejönni létrejön – ritkán és véletlenszerűen. Megmaradását, stabilizálódását dönti el az, hogy nyújt-e szelekciós előnyt az új gazdának az adott környezetben. A környezetnek tehát nem a változat keletkezésében van szerepe, hanem annak megmaradásában, igaz, de abban viszont döntő.

Mutáció

A DNS bázissorrendjét érintő változások a mutációk.

A mutációk és reverzió

A nukleinsav szerkezetében keletkezhetnek egy (vagy csak néhány) bázist érintő mutációk, azaz *pontmutációk*. A mutációk lehetnek *bázis-szubsztitúciók*, mikor egy bázis helyett egy oda nem illő kerül a komplementer láncba. Ha a pontmutáció révén a kódon úgy változik, hogy a fehérje-végtermékbe egy másik aminosav épül be, *misszensz mutációról* beszélünk. Ha a megváltozott bázistriplet nem kódol aminosavat, *nonszensz mutációról* beszélünk. A génben létrehozott egymástól független különböző mutációkat számozzuk, pl. *pro*-58, *pro*-79.

Tekintve, hogy a prokaryotáknál gyakori, hogy egyszerre több, folytatólagos gén íródik át ugyanarra a mRNS-re, egy nonszensz kódon megállíthatja a mutációtól lefelé elhelyezkedő többi, de a mutáció által közvetlenül tulajdonképpen nem érintett gén átírását is. Ilyenkor a mutáció *poláris hatásáról* beszélünk.

A *mikrodeléció* és *mikroinzerció* egy-két bázis kiesését, illetve beszúrását jelenti. Ezek a mutációk, amennyiben a kiesés, vagy beszúrás hárommal nem osztható számú bázissal történő változást hoz létre, a leolvasási keret eltolódását, az ún. *frame-shift mutációt* eredményezik. Ilyenkor teljesen hibás aminosavakból álló polipeptid lánc szintetizálódik, mindaddig, míg az eltolt leolvasási keret egy nonszensz tripletet nem ér el. A deléciónak és inzerciónak ismertek „makro" formái is, melyek hosszabb szekvenciák kiesését, beszúrását jelentik. Evolúciós szempontból igen jelentős a gének, szekvenciák megkettőződését jelentő *duplikáció,* a szekvencia megfordulása (*inverzió*), vagy a genom más helyére való átugrása (*transzlokáció*). Ezekről a genom szerveződését tárgyaló résznél szólunk.

A *reverzió* a mutált gén visszaalakulása a mutálatlan, vad típusú allélla. Ennek valódi létrejötte, pl. egy pontmutáció esetén a megváltozott bázis eredetivé való visszacserélődése inkább csak elvi lehetőség. A gén funkciója azonban visszaállhat enélkül is. A *cisztronon belül* létrejöhet egy második mutáció, melynek során egy, pl. delécióval létrejött frame-shift mutáció eltolt leolvasó keretét egy ugyanennyi bázist érintő inzerció helyrehozhatja. Amennyiben a két történés közötti génszakaszról változatlanul hibásan szintetizálódó polipeptid lánc a termék funkcióját nem befolyásolja, ismét a vad fenotípus nyilvánul meg.

Abban az esetben, ha a reverzió a mutált gén *cisztronján kívül* történő események révén valósul meg, az eredeti mutáció hatásának gátlásáról, *szupresszióról* beszélünk. Ennek egyik lehetséges módja például, ha a második mutáció olyan, hibás antikódonnal rendelkező tRNS -t hoz létre, mely az első mutáció révén kialakult nonszensz kódont mégis felismeri, mégpedig úgy, hogy a vad típusban szereplő, vagy valamilyen más, de a géntermék funkcinalitását megengedő aminosavat épít be a polipeptid láncba.

A mutációk lehetnek *spontán és indukált mutációk*. A spontán mutációk a replikáció alatt jelentkező véletlen hibák következményei. A DNS replikáció során meglepően nagy frekvenciával történnek hibák (minden 100.–1000. bázispárosodás téves), melyeket azonban a DNS replikációját végző DNS polimeráz enzimek (*proofreading*), illetve utólagos mechanizmusok többségében korrigálnak. Ennek eredménye, hogy a genom egy megkettőződésére (gyakorlatilag egy sejtosztódásra) számítva egy adott gén mutációjának valószínűsége 10-4 – 10-10, átlagosan kb. 10-7. Más szavakkal, mintegy 107 – 1010 sejt között valószínűleg található egy adott génre nézve mutáns sejt. (Összehasonlításul, egy baktérium telepben nagyságrendileg kb. 109- csíra van).

A mutációk frekvenciája nagymértékben fokozható *mutagén ágensek*kel**.** Az így létrehozott mutációk az *indukált mutációk*. A mutagén ágenseket hatásmódjuk alapján osztályozhatjuk. A *bázisanalógok* (pl. a timin analóg 5-bromuracil) a megfelelő bázis helyett épülnek be, de attól eltérő párképzésük révén hozzák létre a mutációt (ebben az esetben A helyett G -vel). A *bázismódosítók* a bázisok szerkezetét megváltoztatva okoznak hibás párképzést (pl. nitrosoguanidin). Az akridin festékek egyes *bázisok beszúrását* segítik elő. Az UV sugárzás, különösen a DNS elnyelési maximumának megfelelő hullámhossznál (254 nm) timin-*dimérek* képződéséhez vezet. Ennek letális hatásán alapulnak a felszínek sterilizálására alkalmazott UV lámpák.

A mutagén ágensek által létrehozott hibák korrigálására kiterjedt *javító (repair) rendszerek* állnak a mikrobák rendelkezésére. Az idetartozó mintegy 30 gén többsége része a mikroba ún. *SOS-válasz* rendszerének.

A baktériumokat érintő mutációkat osztályozhatjuk az érintett *fenotípus alapján* is: Fenotípusosan a mutációk létrehozhatják a sejt valamely *szerkezeti elemének* megváltozását, elvesztését. Ilyenek pl. a *Streptococcus pneumoniae* törzsek tok nélküli mutánsai, vagy a Gram-negatív baktériumoknál az LPS szintézisének zavarát jelentő *R (rögös teleptípust eredményező – lásd Morfológia fejezet) mutációk*. Létrejöhetnek a baktérium anyagcseréjét érintő mutációk is. A *fermentációs mutánsok* képtelenné válnak egy, a vad típus által lebontható cukor felhasználására. Ilyenek pl. az egyébként laktóz pozitív *E. coli* laktózt bontani képtelen mutánsai. Amennyiben a mutáció eredményeként elvész valamely szubsztrát (pl. aminosav) előállításának képessége, és azt külső forrásból kell pótolni, *auxotróf*-mutánsokról beszélünk, szemben a vad, *prototróf* típussal. Nagyon fontos csoportját képezik a mutánsoknak a *rezisztencia mutánsok* (pl. StrR - streptomicin rezisztens), melyek például az antibiotikum cél-molekulájának megváltozása következtében válhatnak érzéketlenné egyes drogokkal szemben.

A gyakorlatban a különböző anyagok karcinogén – gyakorlatilag mutagén – hatását azok reverziót, szupressziót indukáló hatása alapján vizsgáljuk. A leírójáról *Ames tesztnek* nevezett eljárásban a *Salmonella* Typhimuriumlegkülönbözőbb mutációk által létrehozott törzseit olyan táptalajra oltjuk, melyben csak minimális szén (glükóz), szervetlen nitrogén forrás és ionok vannak. Szemben az eredetei, prototróf „vad” törzzsel, az auxotróf mutánsok ezen nem tudnak növekedni, mivel számos molekulát (pl. aminosavakat, vitaminokat) mutációik miatt nem tudnak előállítani. Amennyiben egy ágens hatására a törzsből az e táptalajon ismét növekedni képes változatok száma a kezeletlen tenyészetéhez képest megnövekszik, ez igazolja az anyag mutagén (karcinogén) hatását.

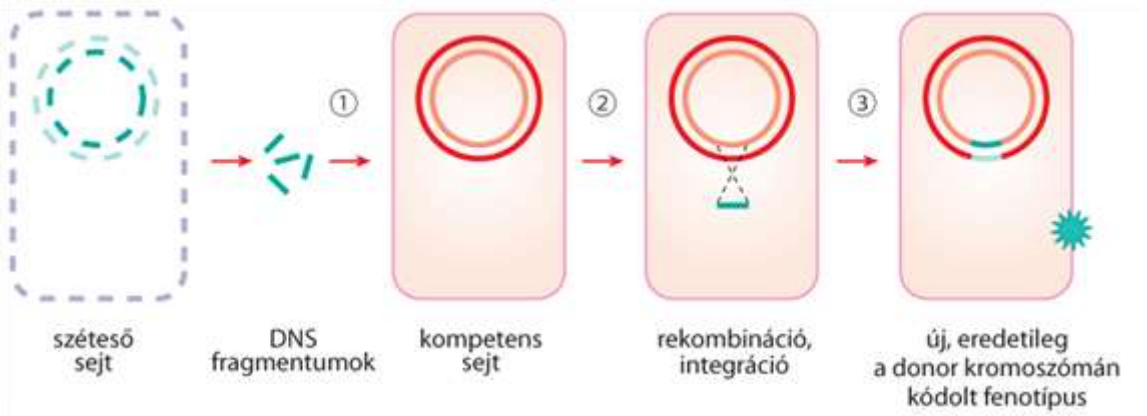
Horizontális génátvitel

Már az eddigiek során is többször rámutattunk a genetikai információ horizontális, egy sejtből egy másikra történő terjedésének lehetőségére, illetve annak jelentőségére. Szemben a magasabb rendű, nem haploid organizmusokkal, itt ez *semmilyen formában nem kötődik a reprodukcióhoz*, új leánysejtek létrehozásához. (Következményesen minden erre utaló, elterjedt elnevezésről, pl. sex pilus, ha meg is tartjuk őket, tudnunk kell, hogy hibás). Szerepe, hogy lehetőséget teremt új variációk létrehozására, illetve a mutációs finomhangolással kiegészülve a változás, fejlődés alapját képezi. A felvett nukleinsav integrálódhat a kromoszómába, de az arra képes mobilis elemek önállóan is replikálódhatnak a citoplazmában (pl. plazmidok, egyes phagok).

A genetikai anyag horizontális terjedésének három lehetséges módja van: *a transzformáció*, *a konjugáció*, és *a transzdukció*. Bár mindegyik nagyobb valószínűséggel történik meg azonos faj sejtjeinek részvételével, előfordulhat az átvitel akár rendszertanilag meglehetősen távoli speciesek között is.

Transzformáció

A transzformáció során a sejt a környezetéből vesz fel és integrál oda más sejtek degradációja során került, vagy mesterségesen odajuttatott DNS-t (**2.1.22. ábra)**.



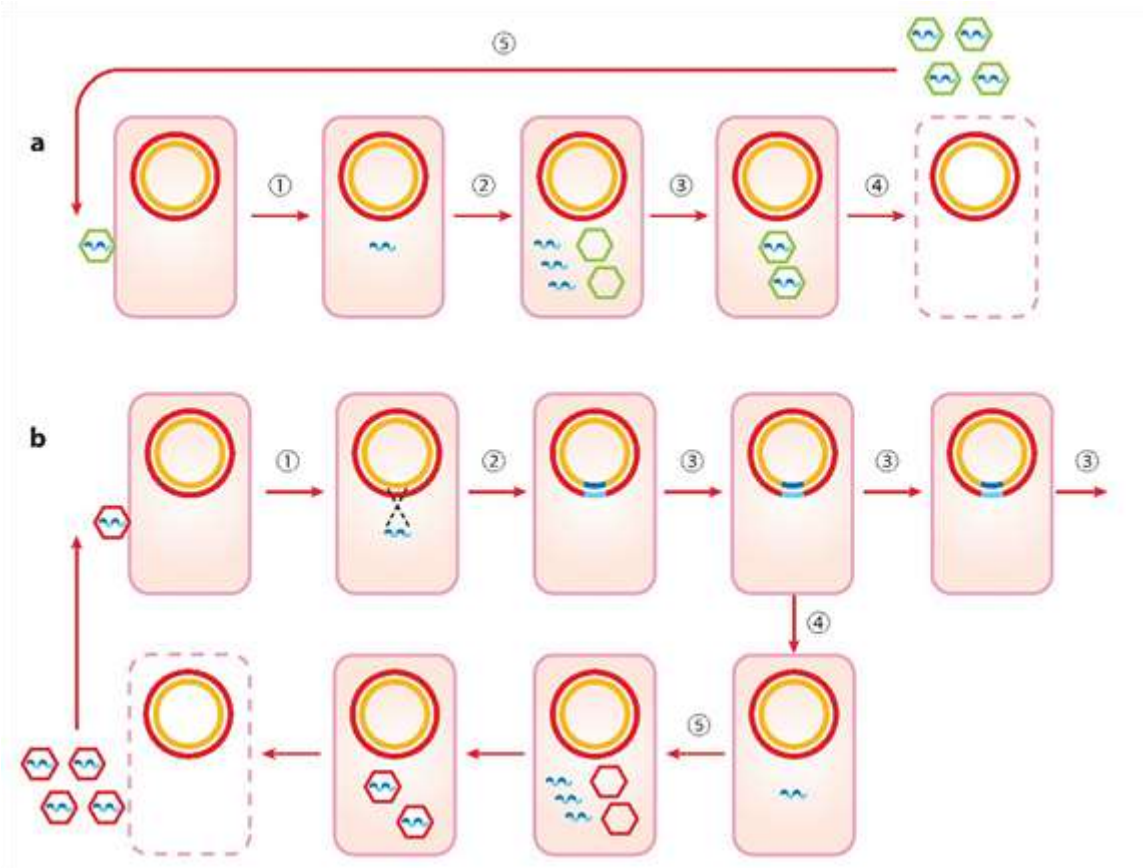
2.1.22. ábra. A baktériumok transzfomációja. Egyes fajok (pl. Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae) sejtjei bizonyos környezeti hatásokra természetes körülmények között is az ún. kompetencia állapotába kerülhetnek, azaz nukleinsavat tudnak felvenni (1). A felvett fragmentum, megfelelő szintű homológia esetén rekombinálódhat a recipiens genomjával (2), és a gén kifejeződése esetén új tulajdonság jelenhet meg (3)

A mechanizmusokról, mellyel a nukleinsav felvétele megtörténik, illetve az új DNS a restrikciós enzimekkel történő hasítást elkerüli, keveset tudunk. Annyi bizonyos, hogy a különböző fajokban ezekért eltérő mechanizmusok lehetnek felelősek. Több faj természetes körülmények között nem képes transzformálódni, bár egyesekben, pl. az *E. coliban,* ezt mesterségesen (só és hősokkal, elektromos sokkal – ez utóbbi az *elektroporáció*) létre lehet hozni. Ilyen mesterséges körülmények között nem csak DNS-fragmentumok, hanem ott replikálódni tudó plazmidok is a sejtbe juttathatóak. A módszert kiterjedten alkalmazzák a molekuláris biológiai munkában. A genetika történetében mérföldkőnek számított a transzformáció jelenségének *Griffith* által történt felismerése: *S. pneumoniae* tokvesztett, avirulens mutánsát sikerült tokos, virulens származékká transzformálnia. Ezt követően tudták *Avery, MacLeod* és *McCarty* a DNS átörökítő szerepét igazolni.

Transzdukció, a bacteriophagok

A transzdukció a baktériumok vírusai, azaz *bacteriophagok* (röviden *phagok*) által közvetített nukleinsav átvitel. A phag *virion* a phag genomjából, és az azt "becsomagoló" fehérje *kapszidból* áll. A phag nukleinsav lehet DNS vagy RNS, de sohasem mindkettő. Vannak összetett szerkezetű phagok, melyek a fehérje kapszidon kívül még bonyolult burkokkal, strukturelemekkel rendelkeznek. A phagok, hasonlóan az egyéb vírusokhoz, szaporodásukat a gazdasejtjüket – esetükben az érzékeny baktérium sejtet – megfertőzve biztosítják. A virion *adszorbeálódik* a baktérium felszínén található struktúrákhoz. A tapadáshoz receptorul szolgáló szerkezeti elemek lehetnek membrán fehérjék, fimbriák, LPS vagy a tok. A phag megtapadását követően nukleinsav tartalmát *injektálja* a sejtbe

Az ezt követő lehetséges történéseket a **2.1.23. ábrán** mutatjuk be.



2.1.23. ábra. Virulens és temperált bacteriophagok. A magyarázatot lásd a szövegben

Az ábrán az ún. *virulens phagok* esetén (A) a sejtbe került nukleinsavról (A, 1) átíródnak a phag-gének, a gazdasejt szintetikus képességeit, energiáját felhasználva megszintetizálódnak a teljes phag termeléséhez szükséges enzimek, majd a phag szerkezeti elemei is (A, 2). Az „alkatrészekből" *automatikusan összeépülnek* a phag részecskék, azaz a phag nukleinsav *becsomagolódik* (A, 3), majd – általában a gazdasejt feloldása mellett (A, 4) – kiszabadulnak a virionok, készen új gazdasejtek megfertőzésére (A,5). Ezt a folyamatot hívjuk *lítikus ciklusnak*.

Az ún. *temperált phagok* (B) nukleinsavja a sejtbe jutva általában nem indukál lítikus ciklust, hanem részévé válik a bakteriális genomnak. A phagnak ezt a bakteriális utódsejtekbe is öröklődő, „csendes" állapotát *prophagnak* nevezzük (B, 1–3). A prophag állapot során a phag DNS általában integrálódik a kromoszómába annak specifikus pontjainál. Egyes phagok képesek a citoplazmában cirkularizálódni, és a kromoszómától függetlenül – gyakorlatilag plazmidként, episzómaként – replikálódni. Bizonyos stimulusok (UV, hőmérséklet shock) hatására, vagy esetleg spontán a prophag aktivizálódhat, az integrálódott phag nukleinsav kivágódik (B, 4), és lezajlik a litikus ciklus elpusztítva a gazdasejtet, új virionokat eredményezve (B, 5). A baktériumsejtnek azt az állapotát, mikor prophagot hordoz genomjában, *lizogén* – azaz potenciálisan lízisre képes – *állapotnak* nevezzük.

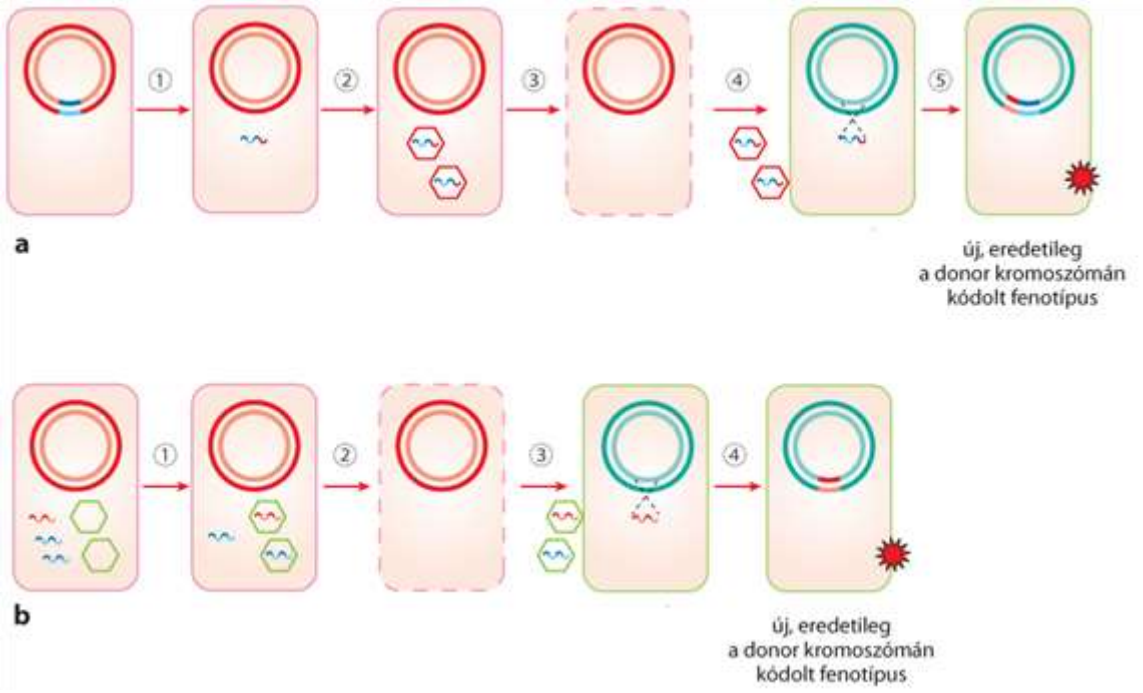
A phagok, így a temperált phag részecskék is tartalmazhatnak valamelyik korábbi bakteriális gazdasejtjükből származó nukleinsav darabokat is. A *transzdukció* ezeknek a nem phag eredetű géneknek phagfertőzés révén az új gazdasejtbe történő horizontális átvitelét jelenti. Az ilyen gének által kódolt új tulajdonság megjelenése a lizogén sejtben a *lizogén konverzió*. Számos kórokozó virulencia faktorának kifejeződése, pl. a torokgyík (*Corynebacterium*

diphtheriae), a skarlát (*Streptococcus pyogenes*) vagy a vérzéses colitis (*E. coli* O157) kórokozóinak toxintermelése, vagy a shigellák, salmonellák LPS-ében egyes immundomináns epitópok szintézise lizogén konverzió eredménye.

Függően a módtól, hogy a phag hogyan „tesz szert" a bakteriális eredetű szekvenciákra, a transzdukció lehet specifikus és generalizált.

Specifikus és generalizált transzdukció

A *specifikus transzdukcióra* (**2.1.24. ábra, A**) képes phagok csak meghatározott géneket tudnak transzdukálni. Ennek oka, hogy e phagok csak a kromoszóma szigorúan meghatározott pontjain tudnak prophagként integrálódni, például az *E. coli* lphagja a *gal* és *bio* gének közé, és így a phag csak ezeket a géneket tudja átvinni. Amennyiben ugyanis beindul a lítikus ciklus és a phag nukleinsav kivágódik a kromoszómából, mintegy 10-5 – 10-6 frekvenciával *kivágási hiba* történik (**A, 1**). Ennek során a phag DNS nem pontosan vágódik ki, hanem „felkap" egyik vagy másik oldalán a gazdasejt kromoszómájából származó szekvenciákat is. Ha az így „megnőtt" hibrid DNS nagysága nem haladja meg a fehérje burok befogadó képességét, az becsomagolódik (**A, 2**) és virionként kiszabadul a sejtből (**A, 3**). Ez a partikulum egy újabb sejtet fertőzve és lizogenizálva már átviszi oda, transzdukálja a donor génjeit, lfag esetén a *gal* vagy *bio* géneket (**A, 4, 5**).



2.1.4.24. ábra. Specifikus és generalizált transzdukció. Magyarázatot lásd a szövegben

A l phagnál vannak kevésbé szigorú megkötésekkel integrálódó phagok is, sőt vannak, melyek gyakorlatilag random integrálódnak (mint pl. az *E. coli* Mu phagja), és a kivágási hiba révén számos gén átvitelére képesek.

A *generalizált, általános transzdukció* alapja (**B**), hogy a sejt által szintetizált phag nukleinsavnak a phagfejbe való csomagolása aspecifikus, automatikus folyamat, oda elvileg bármilyen, például a gazdasejt kromoszómájának replikációja során keletkező megfelelő

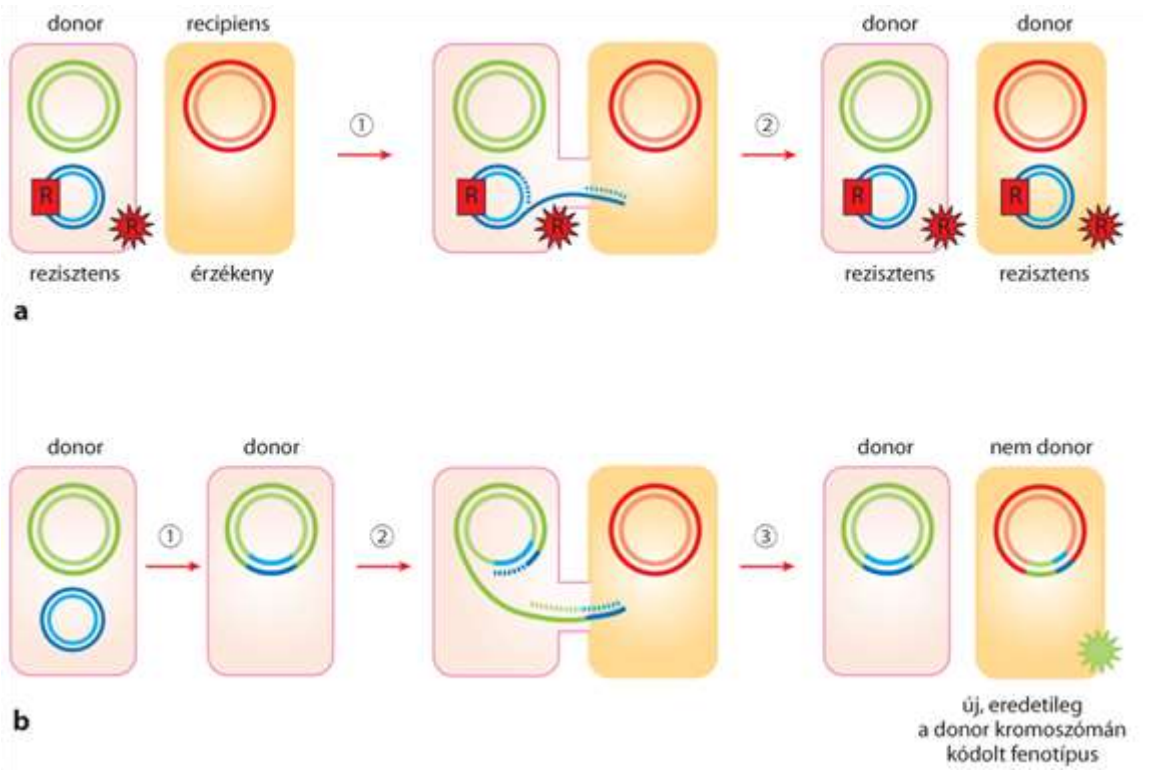
méretű fragmentumok, pl. Okazaki fragmentek – *csomagolási hiba* révén – bekerülhetnek. Az így keletkezett részecskék az úgynevezett *álvirionok, pseudovirionok* (**B, 1, 2**). Bármilyen genomrészt tartalmozó fragmentumnak egyenlő esélye van bekerülni a pseudovirion kapszidjába, az így átvihető információ tehát nem specifikus a phag esetleges integrációs pontja körüli génekre. Az egyik jól ismert általános transzdukáló phag az *E. coli* P1 phagja, mely általában a kromoszómától független episzómaként replikálódik a citoplazmában. A lítikus ciklus során keletkező phagrészecskék közül kb. minden 1000. virion pseudovirion. Tekintve, hogy a kromoszóma mintegy 1-2%-a fér el a P1 phagban, kb. minden 105–108 phagrészecske között található egy adott kromoszomális gént transzdukálni képes partikulum (**B, 3**). A nukleinsav az új gazdasejtbe kerülve vagy degradálódik, vagy – meglévő homológia esetén – rekombinálódik a genomba (**B,4**). Két gén együttes, ún. *co-transzdukciója*, azaz mindkettő megjelenése az új gazdában azt jelenti, hogy a kromoszómán viszonylag közel helyezkednek el. Így a generalizált transzdukció fontos módja gének kromoszómán való lokalizálásának, térképezésüknek.

Konjugáció

A donor sejt saját génjei (pontosabban az által hordozott, átvihető plazmid génjei) által vezérelt génátvitelt konjugációnak nevezzük. A konjugáció során egy *plazmahíd* jön létre a donor és a recipiens sejt között. A bélbaktériumoknál ennek morfológiai megfelelője a korábban már említett *sex pilus*. E folyamatra azok a plazmidok képesek, melyek rendelkeznek a szükséges génekkel, elsősorban a *tra* – transzfer és *mob* – mobilitás génekkel. Ezek kódolják a plazmahíd, sex pilus kialakulásához, illetve a transzformáció során történő speciális DNS replikációhoz szükséges fehérjéket. Ezek a plazmidok az ún. *konjugatív plazmidok.* Ritkán résztvehetnek konjugációban ún. *nem konjugatív plazmidok* is, de ilyenkor ezek vagy integrálódnak arra képes plazmidokkal, vagy még kevéssé ismert módon felhasználhatják azok megfelelő géntermékeit. A legegyszerűbb plazmidot, mely semmilyen más információt nem hordoz, mint ami saját átvitelének képességéhez kell, *fertilitési vagy F faktornak* nevezzük.E plazmid felvételével mindössze donor tulajdonságot nyer az új gazdasejt. A plazmidok döntő többsége azonban, mint láttuk, másféle információt (virulencia faktor géneket, rezisztencia géneket) is hordozhat, és ezek kifejeződhetnek a recipiensben is. Egyes plazmidok, pl. az F faktor, linearizálódva *integrálódhatnak is a kromoszómába* annak maghatározott, homológ szekvenciákat (pl. IS elemeket, lásd később) hordozó pontjain, ami elősegítheti a konjugáció révén nem csak plazmid, de *kromoszómális gének átvitelét*.

A konjugáció menete

A konjugációval történő plazmid átvitel, és a plazmidok által létrehozott kromoszóma-gén transzfer folyamata vázlatosan a **2.1.25. ábrán** látható.



2.1.25. ábra. Plazmid és kromoszomális gének átvitele konjugációval. A magyarázatot lásd a szövegben

Az ábra **A** részén egy konjugatív rezisztencia plazmidátvitele látható. A konjugáció során nem a kettős szálú, teljes plazmid molekula jut át. A plazmahíd kialakulása után a plazmid kettős lánca annak egy meghatározott pontján, az *ori*T locusnál felnyílik, és csak az egyik szál halad át a plazmahídon, miközben úgy azon, mint a donorban maradó másik szálon folyamatosan történik a komplementer szál szintézise (**A, 1**). A maradó, változatlanul cirkuláris szál mintegy gördül az átjutó, felnyílt szálon. Emiatt, elkülönítendő a θ típusú replikációtól, ezt a konjugációhoz kötött DNS megkettőződést *„gördülő gyűrű", rolling circle replikációnak* nevezzük(**A, 2**). Ez teszi lehetővé, hogy amellett, hogy a recipiens szert tesz a plazmid egy kópiájára, abból a donorban is marad egy. Természetesen a folyamat révén a recipiensből is potenciális donor lesz (**A, 3**).

Egy konjugatív plazmid *kromoszómába történő integrációja* (**B, 1**) során nem veszíti el a donor képességet kódoló tulajdonságát. Az integrálódott plazmid egyik szála a már fent leírt módon felnyílhat, és a gördülő gyűrűmodell szerint replikálódva megkezdheti a recipiensbe történő átjutást. Tekintve azonban, hogy ez már nem egy önálló plazmid, most mintegy húzza maga után a kromoszóma vele folytatólagos szálát is, mintha az vele együtt egy hatalmas plazmidot képezne (**B, 2**). Így a donorból, a plazmid segítségével kromoszómális gének juthatnak át a recipiensbe és integrálódhatnak annak kromoszómájába (**B, 3**). Azokat a törzseket, melyek integrált plazmiddal rendelkezvén át tudnak vinni egy donorba kromoszómális géneket, *Hfr – High frequency (of chromosomal gene transfer)* – törzseknek, ezt a fajta konjugációt *Hfr konjugációnak* nevezzük.

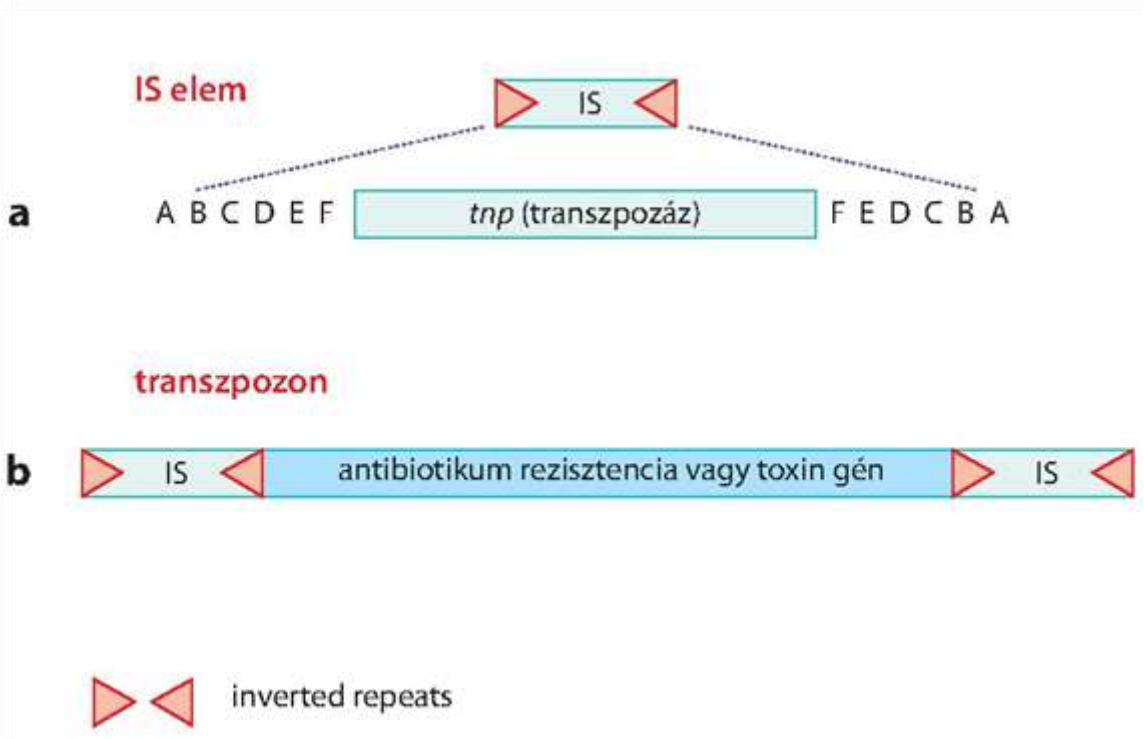
A recipiens akkor nyer donortulajdonságot, ha a teljes plazmid átjut. Azonban az integrált plazmid felnyílásakor annak szála mintegy félbevágódott, a két fél között Hfr törzsekben a teljes kromoszóma helyezkedik el. Tehát a teljes plazmid átjutásához a teljes – közbülső –

kromoszóma átjutása is szükséges. Ehhez a konjugáció megkezdésétől *E. coli* esetén mintegy 100 percre van szükség. Ez magyarázza, hogy a teljes bakteriális kromoszómatérképeken az egyes gének helyét, egymástól mért távolságát percben fejezzük ki: hány perc különbséggel jelenik meg két gén a recipiensben.

A genom szerveződése

A genomban nem csak a különböző gének jelenléte, változataik, de azok egymáshoz viszonyított elrendeződése is folyamatosan tartó evolúciós folyamat eredménye. Gyakori, hogy az azonos funkcióhoz tartozó, azonos ingerekre válaszul átíródó, kifejeződő gének egymás közelében, vagy éppen folytatólagosan, egy közös promoter után, egy operonban helyezkednek el (lásd pl. a laktóz *operon* génjeit).

Egy adott fajban a gének kerülhetnek egymás közelébe a fajban létrejövő belső átrendeződés útján. Ezt nagymértékben megkönnyítik a genomban (magasabb rendűek genomjában is) szétszórtan elhelyezkedő, oda inzertálódni, áthelyeződni, transzponálódni képes szekvenciák, az ún. *transzpozonok.* Legegyszerűbb formáik az *IS elemek (insertion sequence),* melyek mindössze a transzpozicióhoz szükséges transzpozáz enzim génjét hordozzák két végükön egy-egy azonos, ismétlődő, de bázis sorrendjében fordított rövid szakasszal (*inverted repeat*) **(2.1.26. ábra, A).**



2.1.26. ábra. Inzerciós szekvenciák (IS elemek) és transzpozonok. Magyarázatot lásd a szövegben

Az ún. *összetett transzpozonok* (gyakran ezeket hívjuk egyszerűen csak transzpozonoknak), valódi „ugráló gének” (*jumping genes*). Ezek, mint nevük is mutatja, a transzpozícióhoz szükséges gének mellett valamilyen más gént vagy géneket (leggyakrabban antibiotikum rezisztencia, esetleg toxin géneket) is tartalmaznak két végükön egy-egy IS elemmel vagy

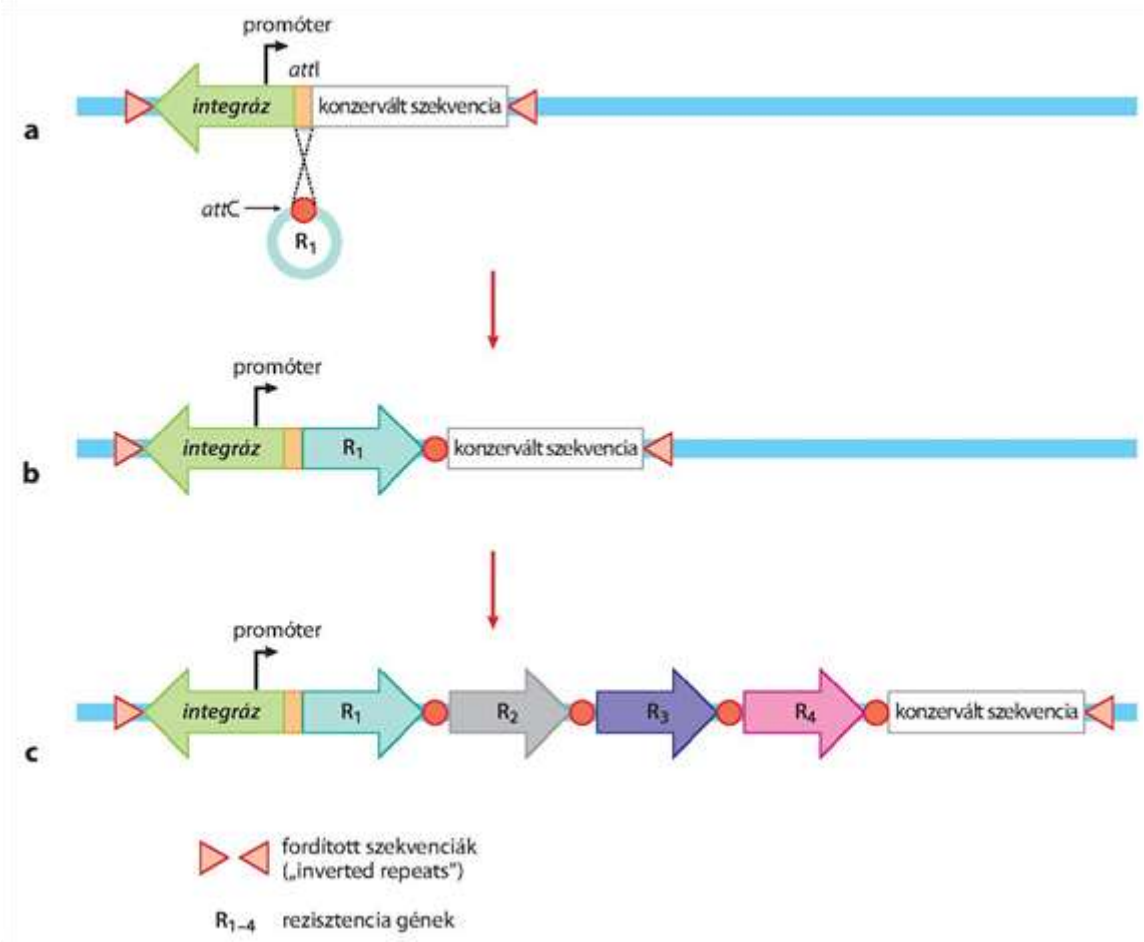
ismétlődő szekvenciákkal (*direct repeats*) (**2.1.26. ábra, B**). Úgy az IS elemeknek, mint a transzpozonoknak több osztálya, változata ismert.

Tekintve, hogy e szekvenciák több példányban lehetnek jelen a genomban, a közöttük, tehát azonos szekvenciák között létrejövő rekombináció lehetővé teszi a közrefogott szakaszok *delécióját, megkettőződését, inverzióját, áthelyeződést*. Mivel azonos IS elemek, transzpozonok nem csak a kromoszómában, hanem extrakromoszomális elemeken, plazmidokon, bacteriophag DNS-ben is elhelyezkedhetnek, rajtuk keresztül ezek részben vagy egészben *integrálódhatnak* a kromoszómába.

Az IS elemek és transzpozonok számos egyéb módon is befolyásolhatják gének kifejeződését. Inzerciójukkal mutációt hozhatnak létre a génekben, a promóter és a gén közé kerülve megakadályozhatják annak átírását, vagy éppen ellenkezőleg, egy erős promóter „bevitelével" teszik lehetővé gyenge saját promóterrel rendelkező gének (pl. egyes béta-laktám antibiotikumokat bontó enzimek) kifejeződését. Az IS elemeknek a genom plaszticitásában viselt jelentőségét indirekt módon mutatja, hogy úgy tűnik, a patogén fajok, illetve fajon belüli virulensebb változatok genomjában nagyobb az IS elemek és transzpozonok száma és változatossága, mint az apatogen vagy a környezetben élő típusokéban.

Integronok és genomiális szigetek

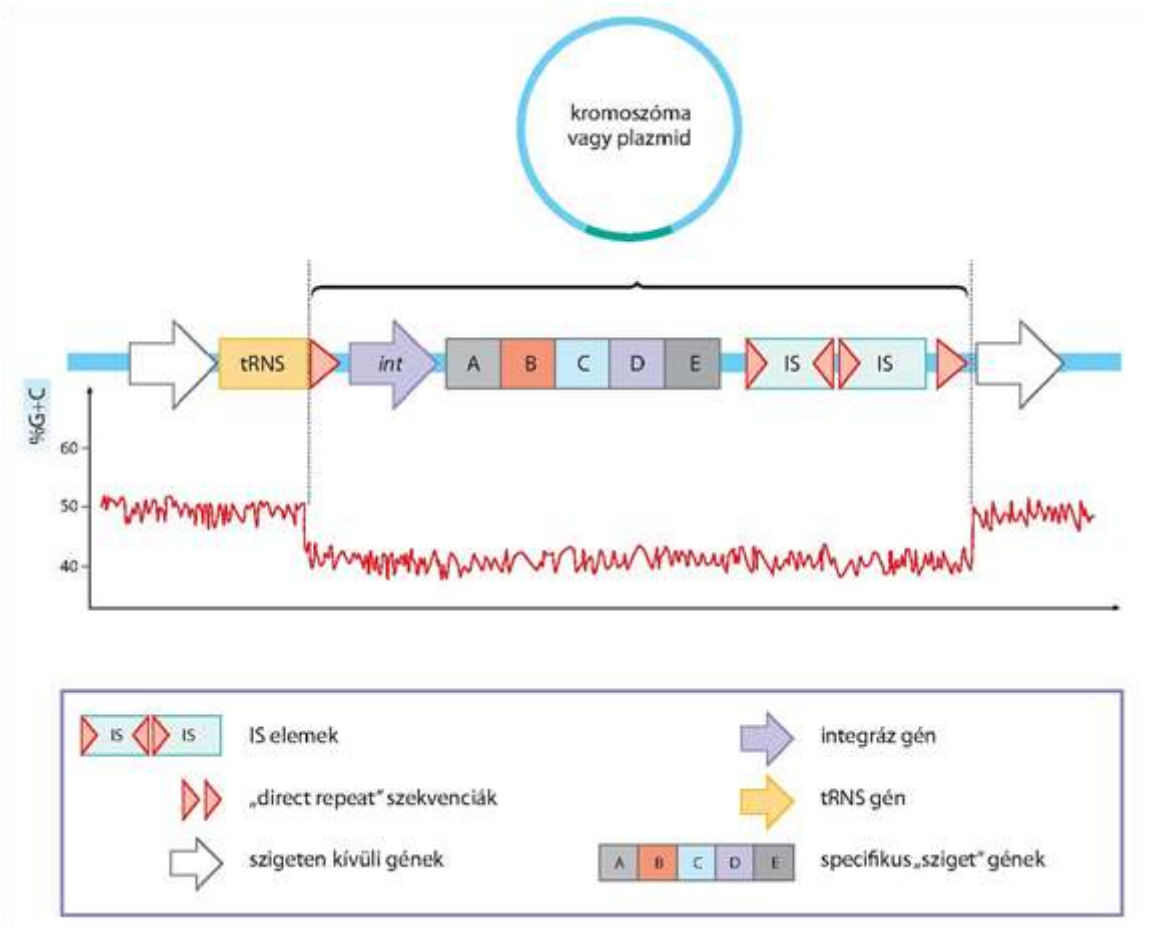
Az utóbbi időben felfedezett, rezisztencia gének egymáshoz rendeződést és egyben kifejeződést szolgáló struktúrák az ún.*integronok.* Úgy működnek, mint egy, a vagonokat (önálló promóterrel nem rendelkező, cirkuláris olvasási kereteket, az ún. kazettákat) egy mozdony (a promoter) mögé szép sorban összekapcsoló, és így azokból vonatot (kifejeződni képes géneket) összeállító rendező pályaudvar. Könnyű belátni ennek jelentőségét: Túl azon, hogy saját promoter hiányában nem átíródó olvasási keretek válnak így funkcionális génné, az egymás mögé felfűzött különböző rezisztenciagének értelemszerűen multi-rezisztenciát okoznak. Gyakori, hogy transzpozonokhoz kapcsoltak, illetve gyakran transzferábilis plazmidokon helyezkednek el (ezek az ún. *mobil integronok*), ami biztosítja horizontális terjedésüket. Számos típusuk közül a legelterjedtebbek az ún. 1.-es osztályú integronok (**2.1.27. ábra)**



2.1.27. ábra. Az 1-es osztályú integronok működése. Az integronok rendelkeznek egy kapcsolódó szekvenciával (*attI*) (A). Ezen keresztül az *intI* által kódolt integrázuk a saját promóter nélküli cirkuláris, antibiotikumrezisztencia géneket hordozó kazettákat (R_1) – amennyiben rendelkeznek komplementer *attC* szekvenciával – integrálni tudja (B). A folyamat több génnel is megismétlődhet, multidrog rezisztens törzseket hozva létre (C)

Amellett, hogy, mint láttuk, a genomban adott az evolúció során a gének áthelyeződésnek lehetősége, a genetikai anyag horizontális átvitele során a baktériumok kész, már egymás mellé rendezett géncsomagokat is felvehetnek. Ezeket a genom többi részétől szigetszerűen elkülönülő, 10–200 kbp nagyságú géncsoportokat *genomiális szigeteknek* nevezzük. Szigetszerűségüket az adja, hogy bázisaik G+C aránya eltér a gazdafaj genomjára jellemzőtől igazolva ezzel, hogy eredetileg valamilyen más fajból származnak. A genomba történő integrációs helyük gyakran egy *tRNS gén mellett* van, feltehetően, mivel ezek meglehetősen konzerváltak a különböző fajokban. Gyakori, hogy ismétlődő rövid szekvenciák (*direct repeats*) határolják a szigetet, illetve, hogy a szigetben található gének között egyéb, integrációra képes mobilis elemek, teljes vagy inkomplet IS elemek helyezkednek el. A szigetben elhelyezkedő néhány, vagy akár több tucat gén egy adott „nagyobb, összetett feladat" elemei. Ilyenek lehetnek például egy komplex metabolikus folyamat génjei (*metabolikus szigetek*) vagy valamely anyag lebontásához szükséges gének (*degradációs szigetek*). Orvosi szempontból a legnagyobb jelentősége a több antibiotikummal, fémionnal szembeni rezisztenciát kódoló szigeteknek (*rezisztenciaszigetek*), és különösen a betegség okozó képességgel összefüggő virulenciafaktorokat (adhezinek, toxinok, transzport rendszerek) kódoló *patogenitési szigeteknek* van (**2.1.28. ábra**). Az első felfedezett

genomszigetek patogenitási szigetek voltak, és ma már tudjuk, hogy rendkívül elterjedtek a kórokozók között.



2.1.28. ábra. A genomiális szigetek vázlatos szerkezete. Magyarázatot lásd a szövegben

Fenotípusos változások – modifikáció – génreguláció

A genotípus által kódolt tulajdonságok közül adott körülmények között kifejeződő tulajdonságok jelentik a *fenotípust*. A génekhez hasonlóan a fenotípust is három betűs, de normál, nem dőlt betűkkel jelöljük (pl. a funkcionális *pro* gén hiányában (pro^-) megjelenő fenotípus a Pro- , azaz a mikroba nem képes prolint szintetizálni, vagy a bla_{AMP} béta-laktamáz gén jelenléte miatt a mikroba Ampr, azaz ampicillinre rezisztens.

Azokat az eseteket, amikor a fenotípus alakulását nem a genotípus változása (mutáció vagy gén felvétel), hanem egy gén kifejeződésének megváltozása okozza, *modifikációnak* nevezzük. A modifikációs képesség jelentőségét nehéz lenne túlbecsülni. A genotípus által tartalmazott információnak ugyanis csak egy kis része szükséges mindig, minden növekedési körülmény között. Ezek az ún. *háztartási gének,* de még az ezek termékeire sincs mindig ugyanolyan mennyiségben szükség. Számos termék folyamatos szintetizálása felesleges terhet, és így hátrányt jelentene a baktérium számára. A siker (túlélés) érdekében elengedhetetlen, hogy e gének kifejeződését a mikroba szabályozni, a megfelelő időben (azaz helyen, környezetben) ki-, vagy bekapcsolni, esetleg finoman szabályozni tudja. Ezen *adaptív válasz* során az információt a környezetről szignálok hozzák, melyek érzékelését, a jel

átvitelét, a gének be-, és kikapcsolásának (átírásának), illetve a fehérjék szintetizálásának lehetőségét bonyolult regulációs mechanizmusok biztosítják.

A fentiekből érthető, hogy a fenotípus modifikáció útján történő megváltozása – szemben a genotípus változásával – mindig az egész populációt érinti, reverzibilis, a mikroba átmeneti, a megváltozott körülményeknek megfelelő, rövidebb távú adaptációját szolgálja.

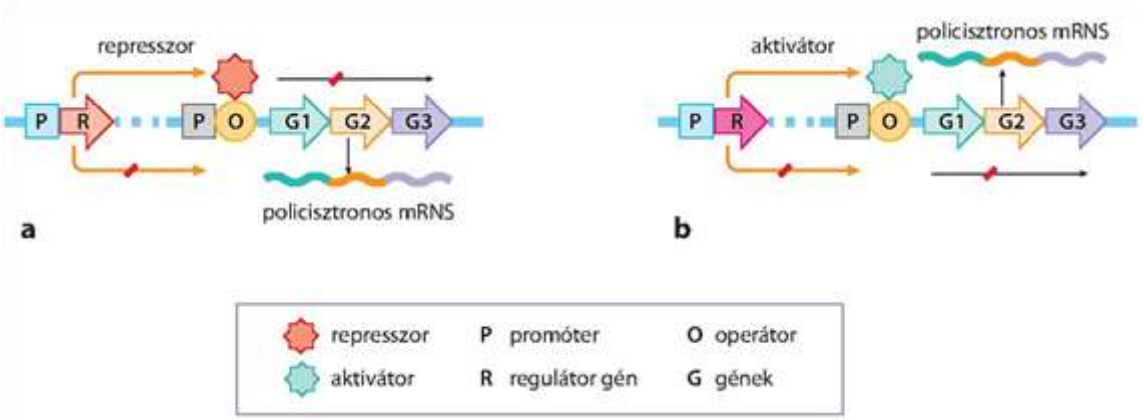
Egy funkcionális fehérje termelését a baktériumok *több szinten szabályozhatják*. A *transzkripciós szintű* reguláció befolyásolja, hogy átíródik-e, illetve milyen gyakran íródik át a mRNS. A *transzlációs szintű* szabályozás a fehérje szintézisét tartja kontrol alatt: milyen gyakran történik meg az átolvasás a már elkészült mRNS szálról. Végül lehetőség van *„végtermék-szintű" szabályozásra* is, azaz mindkét folyamat végterméke, a mRNS és a fehérjék is megváltoztathatóak úgy, hogy miután megszintetizálódtak, eredeti funkciójukat – véglegesen vagy időlegesen – nem, kevésbé vagy jobban képesek betölteni. A termékek degradációja mellett ilyen változás lehet pl. az RNS metilációja, térszerkezetének megváltoztatása, vagy a fehérjék foszforilálása. A szabályozásnak ezeket a szintjeit *posztt-transzkripciós*, illetve *poszttranszlációs szabályozásnak* nevezzük. Egy adott, komplex folyamat szabályozása során a különböző regulációs mechanizmusok szinteket alkothatnak: pl. egy transzkripciós aktivátor termelésének szabályozása történhet poszttranszkripciós szinten.

Feltehetően, miután ez a leggazdaságosabb, a baktériumokban a szabályozás általában – de nem kivétel nélkül – a *transzkripció szintjén* történik „megspórolva" ezzel úgy a felesleges átíráshoz, mint a fehérje szintézishez szükséges energiát. Tekintve, hogy ez a leggyakoribb – és leginkább tanulmányozott – mechanizmus, az alábbiakban erre hozunk néhány példát.

Egy környezeti ingerekre adott válasz általában komplex folyamatok összessége, és több gén összehangolt átírását igényeli. E gének rendeződhetnek egy *operonba* vagy egy *regulonba*.

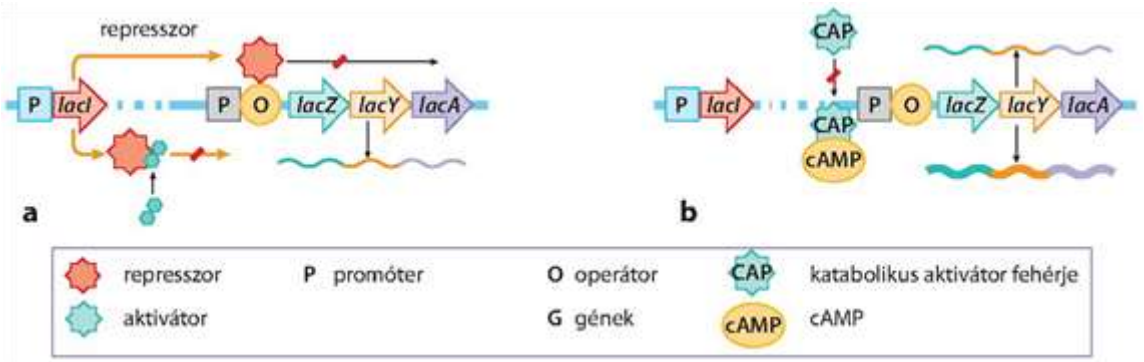
Operonok és regulonok

Az *operonba* rendezett gének *folyamatosan* helyezkednek el a DNS szálon és egy *közös promóter* szabályozása alatt álnak (**2.1.29. ábra**). A promóter közelében elhelyezkedő *operátor* szakaszhoz a *regulátorfehérje* kapcsolódik, ami lehet egy *represszor* (azaz gátolja az átírást) (**2.1.29. ábra, A**) vagy *aktivátor* (azaz elősegíti azt) (**2.1.29. ábra, B**).



2.1.29. ábra. Az operon szerkezete. Magyarázatot lásd a szövegben

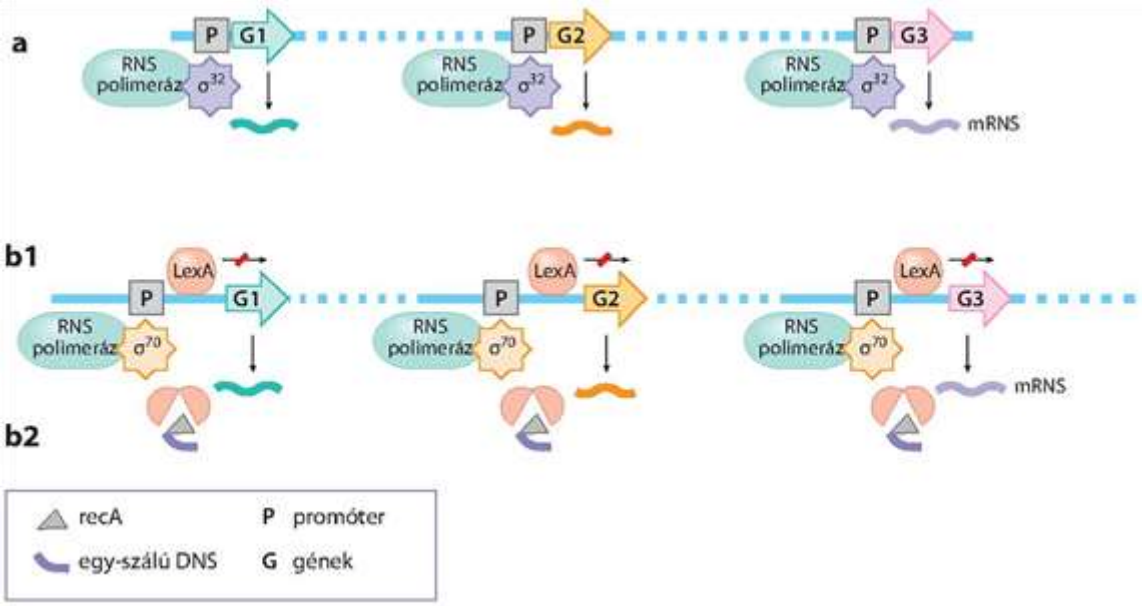
Az operon klasszikus példája az *E. coli* laktóz felhasználásához szükséges három gént tartalmazó *laktóz operon* (**2.1.4.3. – 30. ábra**), melynél számos, lényegesen összetettebb működésű operont is ismerünk.



2.1.30. ábra. A laktóz operon. Magyarázatot lásd a szövegben

A laktóz operon által kódolt gének termékeire két feltétel teljesülése esetén van szükség: ha jelen van laktóz, és ha nincs jelen glükóz, ami sokkal gazdaságosabban felhasználható a baktérium számára. A két feltételhez két regulációs kör tartozik. A gének átírása laktóz hiányában egy *represszor* fehérjének a regulátor szekvenciához való kötődése miatt gátolt. Ha a laktóz rendelkezésre áll, az *allolaktóz* fromájában az kapcsolódik a represszorhoz, mely ezután már nem tud az operátorhoz kötődni – tovább már nem fogja gátolni a három gén policisztronos mRNS-é történő átírását. Ez tehát megtörténik ugyan, de ha a sokkal jobban hasznosítható glükóz is jelen van, csak kis hatékonysággal (**A**). Az alacsony átírási frekvenciának az a magyarázata, hogy a laktóz operon promótere önmagában nem egy „erős" promóter, ehhez az RNS polimeráz-s^{70} holoenzim csak gyengén kapcsolódik. Ezt jelentősen elő tudja segíteni, ha a promóter elé egy, cAMP-ből és egy katabolikus aktiváló fehérjéből (*CAP – catabolic activator protein*) álló komplex kötődik. Ha azonban glükóz is rendelkezésre áll, az alacsony cAMP-szinthez, következményesen a cAMP-CAP komplex hiányához, az átírás fokozásának elmaradásához vezet. Ha viszont csökken a glükózszint, emelkedik a cAMP, a képződő nagy mennyiségű cAMP-CAP komplex már lehetővé teszi az RNS polimeráz kötődését. Ha a laktóz jelenléte miatt a represszió egyidejűleg megszűnt, az operon génjei most már hatékonyan íródnak át (**B**). A magas glükózszint által gyakorolt gátló, több operont is érintő hatást *katabolikus represszionak* nevezzük, jóllehet inkább az alacsony glükózkoncentráció által kiváltott aktiválásról van szó

Az azonos szignálra adott válaszként átírandó gének nem minden esetben helyezkednek el fizikailag egymás szomszédságában, egy közös promoterről policisztronos mRNS-sé átíródva. Azt a regulációs egységet, mely egymástól távol elhelyezkedő, saját, de azonos promóterrel rendelkező, illetve azonos szabályozásra átíródó génekből áll, *regulonnak* nevezzük. Nem ritka, hogy a baktériumot érő ún. globális ingerekre adott rendkívül összetett válaszokhoz szükséges gének rendeződnek ilyen ún. *globális regulációs hálózatot* alkotó regulonokba (**2.1.31. ábra**).



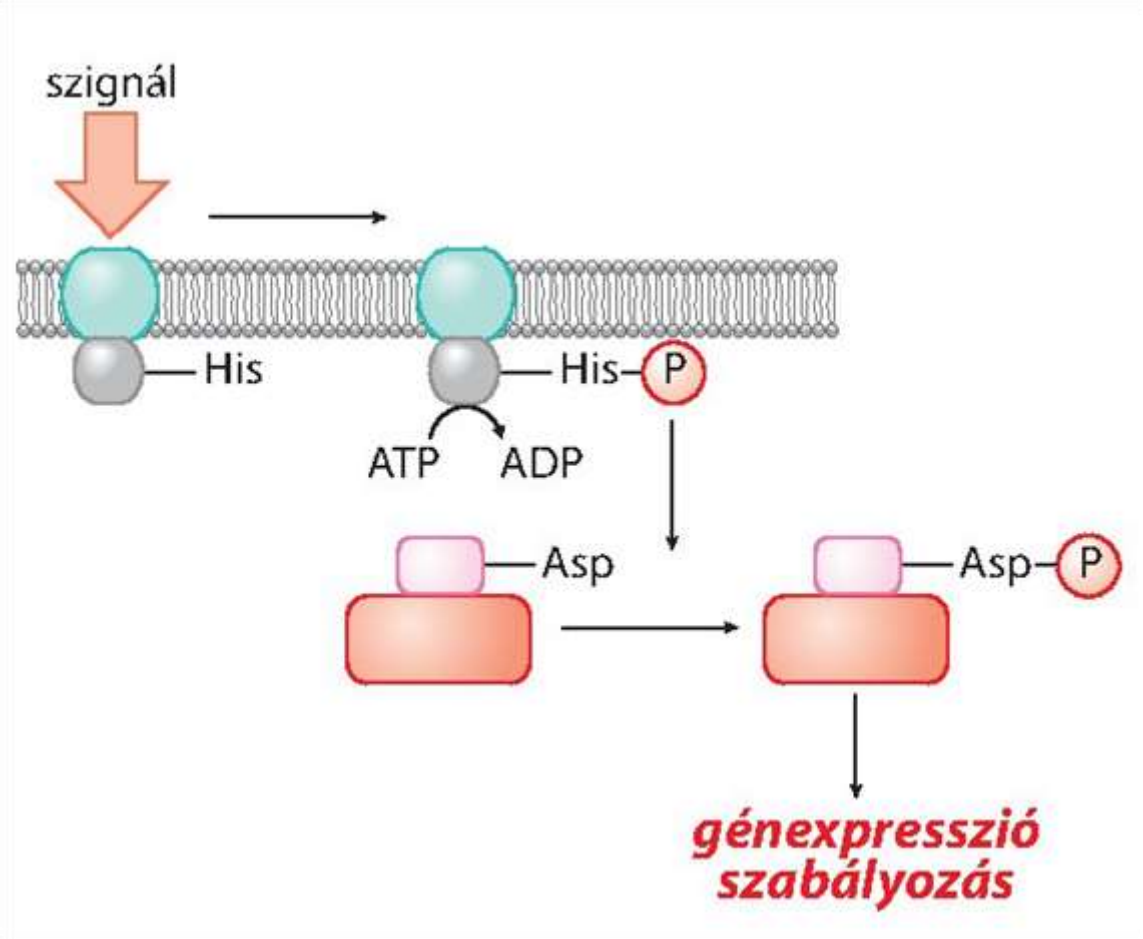
2.1.31. ábra. A regulonok működése. Magyarázatot lásd a szövegben

A regulonok egyik klasszikus példája a *hősokkra* adott válasz (**A**). Hő hatására a fehérjék konformációjukat megváltoztatják, mely fiziológiás működésüket gátolja. A baktériumsejt (és gyakorlatilag bármely más sejt) ezt oly módon próbálja, és egy ideig tudja is kompenzálni, hogy a konformációjukat megváltoztatott fehérjéket lebontó speciális proteázokat, illetve ún. *kaperon* fehérjéket termel. Ezen utóbbiak a sérült proteinhez kötődve próbálják azok hibás térszerkezetét megszüntetni. Ezen ún. *hősokk fehérjék* génjeinek egyidőben, a hősokk hatására létrejövő átírását az teszi lehetővé, hogy speciális promótereikhez nem a „szokásos” σ^{70}, hanem a σ^{32} faktor biztosítja az RNS polimeráz kötődését. Ha a σ^{32} rendelkezésre áll, e gének, helyezkedjenek el bárhol a kromoszómában, átíródnak. Ismét csak a különböző regulációs szinték kapcsolódására példa, hogy a σ^{32}génje, az *rpoH* konstitutive átíródik minden hőmérsékleten, de egyrészt ennek hatékony átolvasása σ^{32} termékké már csak emelkedett hőmérsékleten történik meg, azaz transzlációs szinten szabályozódik, illetve a hőérzékeny σ^{32} is csak emelkedett hőmérsékleten stabil, tehát a szabályozásnak van poszttranszlációs szintje is.

Egy másik, globálisan regulált történéssorozat az ún. *SOS válasz*, a sejt reakciója „nagy baj” esetén (**B**). A „nagy bajt” a normálisan kettős szálú DNS sérülése, az egyszálú fragmentumok felszaporodása jelzi és jelenti. A sejt osztódásának meg kell állnia, hogy a sérült kromoszóma ne kerülhessen át az utód sejtekbe, illetve azt reparációs enzimeknek ki kell javítaniuk. Az ehhez szükséges gének átírását normálisan egy, a promotereik közelében a DNS-hez kapcsolódó fehérje, a LexA gátolja (**B1**). Azonban ha az egyes szálú DNS mennyisége emelkedik a sejtben, az az ún. RecA fehérjével komplexet képez, amely így a LexA-hoz kapcsolódva annak autolízisét indukálja, mintegy szabaddá téve az utat az SOS gének átírása előtt (**B2**).

Felmerül persze a kérdés, hogy hogyan érzékelik a sejtek a környezet megváltozását, azt, hogy egyes gének be vagy kikapcsolására szükség van? A baktériumok között ennek legelterjedtebb módja a jel átvitele ún. *két komponensű regulációs rendszerekkel*. A rendszer *érzékelő része* egy, valamilyen specifikus ingerre (pl. egy tápanyag jelenlétére, hőmérsékletre, ozmotikus nyomásra, a vas hiányára) az ATP terhére egyik hisztidin reziduumán autofoszforilációra képes, a sejt membránjában elhelyezkedő hisztidin-kináz. Ez a

foszforilálódott szenzor adja át foszfát csoportját a választ reguláló fehérje egyik aszparaginsavjának. Ennek foszforilációja olyan konformációs változásokat indukál, mely megváltoztatja a regulátor más, a gének kifejeződéshez szükséges molekulákkal (DNS, RNS vagy fehérjék) lérehozandó kapcsolatát, így befolyásolva az érintett gének kifejeződését (**2.1.32. ábra**).



2.1.32. ábra. Kétkomponensű regulációs rendszerek. Magyarázatot lásd a szövegben

A gombák – Általános mikológia

Simon Gyula

A „gomba”, mint élőlény nehezen definiálható fogalom. *Polifiletikus szerveződésű* – azaz a törzsfejlődés során számos zsákutcát, még több előremutató evolúciós jegyet hordozó – nevezéktanilag és rendszertanilag is heterogén *eukaryota* élőlények, azok között is önálló „országot” („*regnum*”) alkotva. Meglepő tény, hogy evolúciós szempontból a rDNS szekvenciatérképük alapján sokkal közelebb állnak az állatvilághoz, mint a növényekhez. A több mint százezer ismert gombafaj természetesen rendkívül változatos morfológiájú. Ez különösen igaz az ún. *„kalapos gombákra”*, melyek látható része a gombák *szexuális termőtestje*. Ugyanakkor a *mikroszkopikus gombák* is számtalan morfológiai sajátságot mutatnak, ez a későbbiekben tárgyalandó azonosításuk alapja is. Változatosságuk az oka, hogy „gombasejtről”, mint egységes sejttípusról nem is beszélhetünk. A gombák morfológiai alapegységét, a gombasejtet leginkább a magasabb rendű, ún. *valódi gombák* szerveződésén

keresztül ismertetjük, annak előrebocsátásával, hogy egyes gombacsoportok speciális tulajdonságokkal rendelkeznek.

A gombák *heterotróf* élőlények, szerves szénforrást igényelnek. Enzimjeik segítségével szubsztrátjukat *a sejten kívül* feloldják, és *sejtfalukon át* az emésztett összetevőket folyamatosan veszik fel. A legtöbb gomba mitokondriumai segítségével *oxidatív energiatermelést* folytat. *Anaerob* életmódra a gombáknak viszonylag kis hányada képes. Ezek azonban – ún. *fakultatív parazita* életmódjuk révén – rendkívül fontos tagjai az orvosi mikológia látókörébe került gombáknak. Parazita létük alapja éppen az anaerob oxidatív energiatermelés.

A gombák morfológiája

A gombasejt eukarióta jellege egyértelmű: genomjuk *valódi sejtmagba* szerveződik, melyet membrán vesz körül. A *sejtmagok száma* különböző gombacsoportokban eltérő, sőt akár ugyanazon faj fonálsejtjeiben is változhat, mivel a gombasejtek közötti pórusokon át a sejtmagok vándorlása is lehetséges (lásd később). A sejtmagot kétrétegű magmembrán veszi körül, amely elhatárolja a magot a citoplazmától. Rajta viszonylag nagyméretű pórusok találhatók, melyeken az anyagvándorlás a citoplazma és a sejtmag között biztosított. Ugyanez teszi lehetővé a nagy molekulájú mRNS-ek gyors eljutását a riboszómákhoz.

A **sejtfal** a gombák speciális képlete, mely elkülöníti őket az állatvilágtól. Ugyanakkor – szemben a növényvilággal – sejtfaluk fő építőeleme nem a cellulóz, hanem a *kitin*. A magasabb rendű gombáknál a kitin vagy *glükán*, vagy *mannán* társaságában található. A gombák egy része különböző *heteropoliszaharidokat* termel, melyek *tokot* alkotnak, és szerepet játszhatnak a gazdaszervezet felszíneivel történő kapcsolat kialakításában. Egyes gombacsoportoknál hasonló feladatot lát el a sejtfal *melanin* polimerje. E két sejtfalalkotó a gombacsoportok fontos virulenciafaktora.

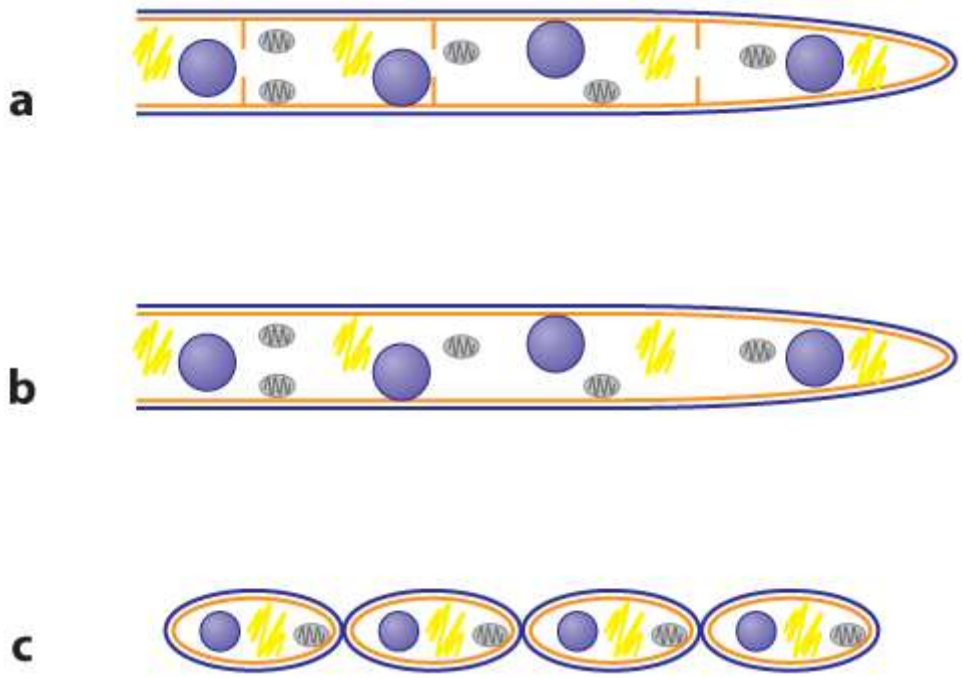
Az *endoplazmatikus retikulum és a riboszómák* a gombasejtek fehérjeszintézisében játszanak alapvető szerepet. A gombasejtek vázát, az ún. *citoszkeleton-rendszertmikrotubulusok, mikrofilamentumok* és a hozzájuk kapcsolódó *motor proteinek* alkotják. A tubuláris rendszer *tubulin*fehérjékből épül fel, a mikrofilamentumokat *aktin*, a motoros proteineket főként *miozin* alkotja. A gomba tubulinok *benzimidazol* érzékenyek, és mivel ez a molekula sem a növényi, sem az állati sejtekre nem hat, tulajdonképpen a gombaellenes terápia kulcsmolekulájának tekinthető. A további fő sejtalkotók a *mitokondriumok, vakuólumok, lipidtestek* és egyéb raktározó, kiválasztó és sejtméreg-eltávolító elemek.

Mikro-, és makroszkópos megjelenésük alapján a gombákat *sarjadzó (élesztő)* és *fonalas (penész) gombákra*, illetve a környezeti körülményektől függően mindkét formát felvenni képes *dimorf gombákra* osztjuk. A gombák morfológiáját tekintve célszerű a *gombatelep* felépítéséből kiindulni. A *telep (tallusz)* a gombák szabad szemmel is látható képlete, mely a táptalajon és a penészes élelmiszeren, vagy a fürdőszoba „bepenészedett” sarkában, de kinn az erdőben is a termőtest és a hozzá kapcsolódó fonálzat formájában észlelhető (**2.1.33. ábra**).

2.1.33. a. ábra. A gombák telepmorfológiája. A: fonalas gomba, B: sarjadzó gomba

2.1.33. b. ábra.

A fonalas gombákra jellemző *fonálzat (micélium)* (**2.1.34. ábra)** a gombafonalak és a rajtuk képződő aszexuális szaporító képletek, a *conidiumok* kusza szövevénye. Építőelemei a *gombafonalak (hifák)*. Ezek általában a fajra jellemzően *szeptáltak* (**2.1.34. ábra, A**,) henger alakú, megnyúlt sejtek láncolatából állóak. Külső faluk folyamatos, és a sejteket elválasztó *szeptumon* pórusok találhatók, melyeken át a sejtalkotók és a genetikai állomány a sejtek között kicserélődhet. A mikroszkopikus gombák egy része (pl. az ún. járomspórás gombák, *Zygomycota*, lásd később) *nem, vagy nagyon ritkán képez szeptumot*, ezáltal olyan fonalrendszert hoz létre, mely *egyetlen sejthalmaznak* felel meg (**2.1.34. ábra, B**,).



2.1.34. ábra. A gombafonalak. A: szeptált hifa, B: nem szeptált hifa, C: pszeudohifa - grafikus

A fonalas gombákra a polarizált, egy irányba történő növekedés jellemző. Ez eredményezi azt, hogy szilárd táptalajon a telep építőelemei, a fonalak azonos növekedést mutatva, körkörösen egyre nagyobb telepeket hoznak létre. A természetben ennek megfelelője a fonálszövedéken kialakuló „kalapok”, azaz termőtestek kialakulása, ún. *boszorkánygyűrű* formájában. Mindehhez természetesen szükséges a gombafonalak *elágazási képessége*. A szeptumok határán az elágazódások multipolárisak, ráadásul mind a párhuzamosan futó hifák, mind pedig az azonos hifából kiinduló oldalágak anasztomózisa is növeli a gombamicélium növekedési képességét. Ugyanakkor a gombák harmadik dimenzióban is nőnek: a táptalajról, vagy az élelmiszerről a felszíntől kiindulva, *légmicéliumokat* képezve, „felfelé” is növekednek, *vegetatív szaporító képleteket* képezve. Mindez szilárd felszínen, táptalajon növekedve eredményezi az e gombákra általában jellemző szétterülő, bársonyos, „szőrős” kinézetű telepeket (**2.1.33. ábra, A)**. Az ún. *vegetatív hifáik* a táptalajba hatolva a táplálék felvételében játszanak szerepet.

A sarjadzógombák jelentős része folyadékközegben, levegőtől elzárva él, és a morfológiai szempontból legoptimálisabb alakzatot, a *gömbszerű formát* alakította ki az evolúció során. A sejtek csak lazán kapcsolódnak egymáshoz. A „sarjadzás” mint aszexuális szaporodási mód éppen erre a sajátságra utal: az anyasejt utódsejteket, *blastoconidiumokat* termel, melyek sarjadzással képződnek, majd leválnak az anyasejtről. A sarjadzógombák is létrehozhatnak a gombafonalakhoz hasonló, de csak látszólag hasonló struktúrákat: az *álfonalakat* vagy

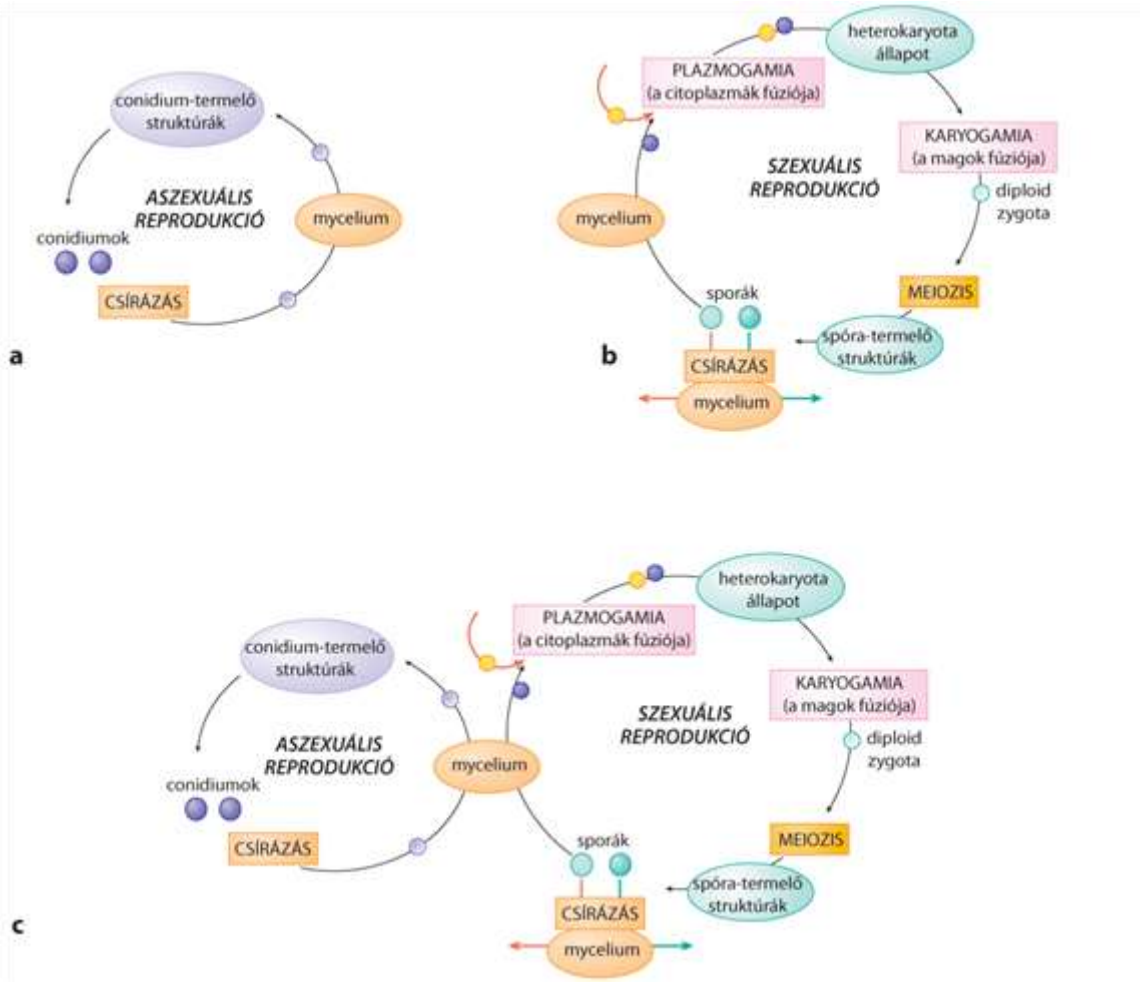
pszeudohifákat. Az *álfonalak* tulajdonképpen megnyúlt, szét nem vált sarjadzósejtek, melyek láncolatot alkotnak. Szemben a valódi hifákkal, az álfonállánc tagjai csak csúcsukkal érintkeznek, külső faluk nem folyamatos, a sejtek egymástól könnyen elválnak (**2.1.34. ábra, C**,). A sarjadzógombák mikrobiológiai táptalajokon általában a baktériumokhoz hasonló, kompakt telepeket hoznak létre (**2.1.33. ábra, B)**.

A gombák szaporodása

A gombagenom információs anyaga kettős szálú DNS, kromoszomális tagoltsággal. A genom mérete a növény- és állatvilághoz képest kicsiny, de fajonként jelentős eltérést mutat. A kromoszómaszám is változatos. A sejtmagállomány a vegetatív szaporodás fázisában – néhány kivételtől eltekintve – *haploid*. A *diploid fázis* rövid, gyakran csak egyetlen sejtre, a zigótára korlátozódik a szexuális ciklusban. A zigóta fázist azonnal meiozis követi, haploid spórák létrejöttével., sőt, mint említettük, a gombák egy részénél az evolúció során a szexuális reprodukció lehetősége tejesen elveszett. Ez tulajdonképpen a parazita életmód kialakulásának „melléktermére".

A gombák szaporodása lehet ivaros és/vagy ivartalan (*szexuális és/vagy aszexuális*). A szexuális szaporodást mutató telepet *teleomorfnak*, az aszexuálisan reprodukálódó telepet *anamorfnak*, a mindkét sajátságot mutató telepet *holomorfnak* nevezzük. Hogy még bonyolultabb legyen a képlet, egyes gombák holomorfjához két vagy több anamorf is tartozik; ezeket nevezzük *szinanamorfoknak*. Életciklusuk elvben az ivaros és ivartalan ciklus váltakozásából („nemzedékváltakozásból") állna. A szexuális szaporodás gyakorlatilag a genetikai diverzitást szolgálja, míg az aszexuális szaporodás szinte konzerválja a genetikai állományt). Az ivaros és ivartalan fázisok váltakozása rendkívül környezetfüggő, a környezeti adottságok megakadályozhatják a szexuális ciklus kialakulását (pl. száraz, forró időben az erdei „kalapos" gombák megjelenését). Az evolúció során bizonyos gombák el is veszítették a szexuális szaporodás képességét.

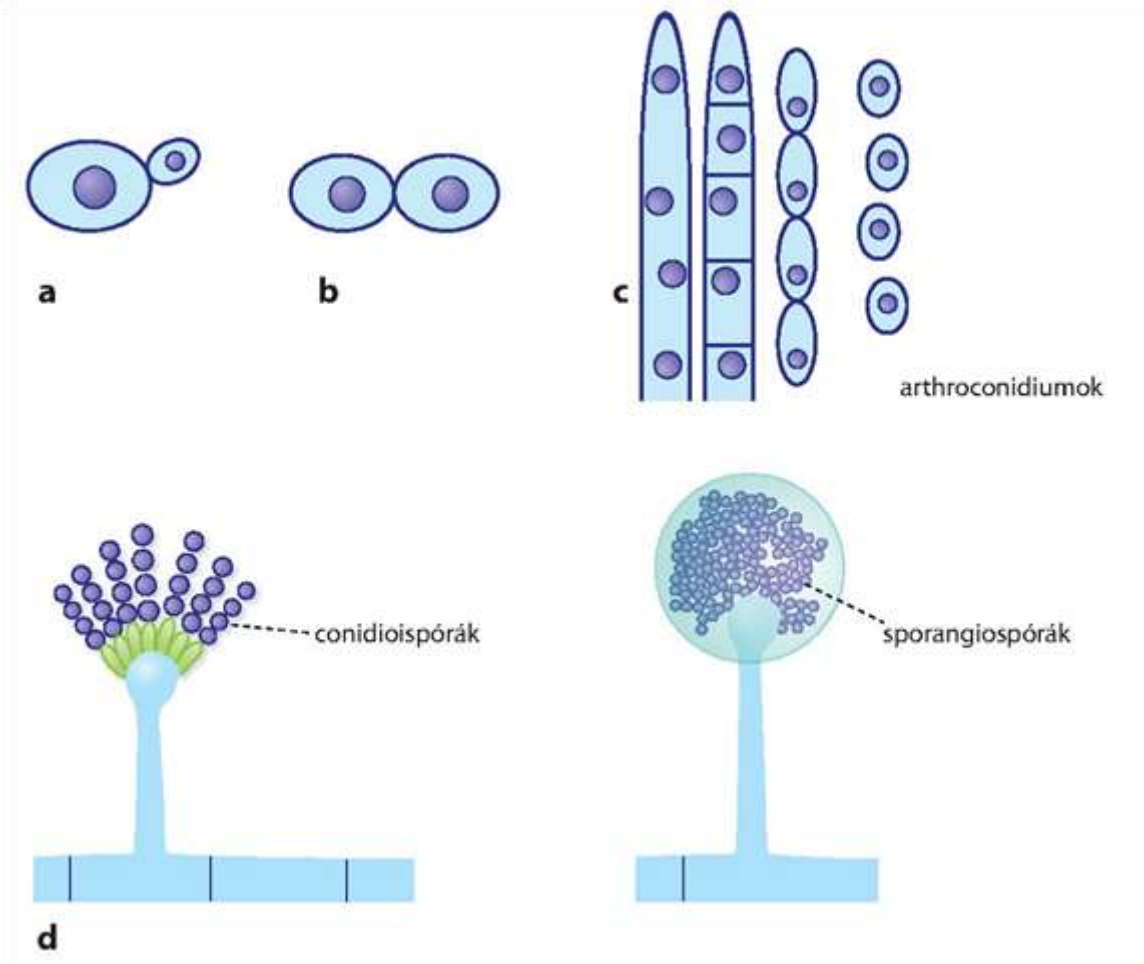
A spórák és conidiumok fogalma rendszeresen összekeveredik a mikológiában és a köztudatban is. A „laikus" szemlélet a mindennapi szóhasználat alapján csak spórát ismer, a szakirodalom ennél sokkal változatosabb – és kaotikusabb. Szinte minden tankönyv egyenlőségjelet tesz a spóra és a conidium közé. Ennek tradicionális oka, hogy a mikroszkóp alatt egy-másfél évszázaddal ezelőtt nem tudtak morfológiai különbségeket tenni reprodukciós képletek között. E fejezet nem titkolt célja, hogy ezt a nevezéktani káoszt lehetőség szerint oldja. A mai megítélés szerint az aszexuális (vegetatív) reprodukció szerve a *conidium***(2.1.35. ábra)**, a szexuálisé pedig a *spóra*.



2.1.35. ábra. A gombák conidiumai. A: Blastoconidium képzés sarjadzás, bimbózás, B: hasadás során, C: Arthroconidium-képzés a hífa fragmentálódása révén, D: Sporangiospóra- és conidiospóra-termelés

A gombák ivaros és ivartalan szaporodása

Az ivartalan szaporodás során (**2.1. 36. ábra, A,** nem történik sejtmagegyesülés és meiosis.



2.1.36. ábra. A gombák aszexuális és szexuális szaporodása. Magyarázatot lásd a szövegben

A különböző gombafajok között ennek több formája is ismert. Már említettük az élesztőgombák „*sarjadzását*", mikor egy kisebb leánysejt „bimbózik" és válik le az eredeti sejtből *blastoconídiumokat* eredményezve (**2.1. 35. ábra, A**. Ehhez hasonló a látszólag a baktériumoknál látottakra emlékeztető, két, közel azonos méretű leánysejtet eredményező *osztódás* (**2.1. 35. ábra, B**). A fonalas gombák aszexuális szaporodása, egyes fajokra jellemző módon történhet a hifák töredezésével, mikor ún. *arthroconidiumok* jönnek létre (**2.1. 35. ábra, C**). Az *aszexuális spórák, azaz a conidiumok* kialkulhatnak egyes fajok légmicéliumain elhelyezkedő speciális struktúrákon is, melyek alakja, szerkezete a gombák mikroszkópos azonosításának lényeges támpontjai. Ilyen conidiumok az ún. *sporangiosporák* és *conidiosporák* (**2.1. 35. ábra, D**).

A szexuális szaporodás során (**2.1. 36. ábra, B**) két, azonos fajhoz tartozó, de genetikailag különböző haploid sejt citoplazmája az ún. *plasmogamia* során fúzionál átmenetileg két különböző magot tartalmazó (*heterokaryotikus*) állapotot hozva létre. A magok egyesülése, a *karyogamia* révén alakul ki a *diploid* sejt, a *zigóta,* melyből a *meiosis* révén jönnek létre a *szexuális (valódi) haploid spórák*.

A gombák rendszertana

A klasszikus taxonómia alapja a szexuális reprodukció módja, azonban az orvosi mikológiában ez a rendszerezés csak korlátozottan alkalmazható. Utóbbiban az elsősorban az *anamorf képleteken alapuló*, mesterséges besorolás érvényes.

A közelmúltban még hat gombacsoportot (divíziót) különböztettek meg a taxonómusok. A molekuláris filogenetikai térképezés alapján néhány, korábban a gombák közé sorolt csoportot átsoroltak a prokaryoták közé, míg más – előzőleg másutt számon tartott organizmust, pl. a *Pneumocystis jirovecii*-t (korábban *P. carinii*) – a gombák közé emelték át. Ez természetesen azzal a hátrányos körülménnyel jár, hogy ezek a mikrobák „idegenek" a régi és új irányzatok között.

A klasszikus taxonómia az *Eumycotina (valódi gombák)* divízión belül jelenleg négy csoportot különít el, szexuális reprodukciójuk alapján Az olyan csoportok és elnevezések, mint „álgombák", „félgombák" stb. csoportok még évtizedekig munkát (és megélhetést) biztosítanak az elméleti mikológusok számára, ám a gyakorlati mikológiát csak nehezíti a sok átsorolás, mivel nemcsak gombák, hanem betegségek is elsikkadnak az elméleti tudományok útvesztőjében. Ugyanakkor a klinikai szereppel bíró gombák száma exponenciálisan növekszik, ezért azokra a csoportokra is szeretnénk felhívni a figyelmet, melyek inkább a jövő kihívásai közé tartoznak

A gombák taxonómiai csoportosítása

1. Chytridiomycota. A telepek többnyire kicsinyek, gyakran egysejtűek. A fajok legtöbbje nedves környezethez, álló- vagy folyóvízhez köthető. Feltehetőleg az algákhoz legközelebb álló valódi gombák. Aszexuális reprodukciójukban az ivarsejtek egyesülésében a flagellumok játszanak szerepet. Állatorvosi szempontból van jelentőségük: kétéltűek zoonózisában írták le kóroki szerepüket.

2. Zygomycota. Az ún. *„járomspórás" gombák* jellegzetes szexuális szaporodási módjukról kapták nevüket. Többnyire „primitív", a valódi gombák alacsonyabb régióiba sorolt fajokat foglalnak magukba. Fonalaik gyakran szeptum-nélküliek, vagy kevés szeptummal tagoltak. Szaporító sejtjük a *sporangium*, amely számos sejtmaggal rendelkezik, ezek mindegyike ún. sporangiospórát képez, a citoplazmából való kiszabadulás után. A „szülő" sejtek egymástól morfológiailag megkülönböztethetetlenek, a sejtfúzió pedig *zygospóra* (járomspóra) kialakulásához vezet. Ez egy morfológiailag elkülöníthető megvastagodott falú képlet, mely a divízión belüli elkülönítéshez nyújt segítséget. Orvosi szempontból azonban ennek csekély jelentősége van: részben „primitívebb" szerveződése, részben pedig termotoleranciája és gyors szöveti szaporodása révén ritka, igaz, akkor gyakran fatális kimenetelű fertőzések okozója lehet e csoport bármely tagja. Ez elsősorban immunkárosodott betegeknél fordul elő. A leggyakoribb kórokozók a *Mucorales, Mortierreales, Entomphthorales* rendbe tartoznak. A „zygomycosis" gyűjtőnév magába foglalja a korábbi „mucormycosist" és egyéb, járomspórás gombák okozta fertőzéseket.

3. Ascomycota. Az aszkuszos gombák szexuális szaporodása rendkívül változatos morfológiájú. Orvosi mikológiai szempontból az egyetlen jelentősége, hogy nagyfokú morfológiai diverzitást tesz lehetővé a „hím" és „női" – morfológiailag külsőleg megegyező, de genetikailag eltérő – telepek genetikai állományában. Az orvosi szempontból fontos gombák anamorfjai többnyire ebbe a csoportba tartoznak. A *Penicillium*ok, *Aspergillus*ok, az ún. *dimorf gombák* közül a *Histoplasma, Coccidioides* kórokozók, továbbá a bőrgombák (*dermatophytonok*), melyeket manapság a körömgomba-ellenes terápiát hirdető cégek

egyszerűen körömgombának neveznek, mind ide tartoznak. Számos egyéb gombaanamorffal együtt ritka, de éppen ezért az orvosi mikológia szempontjából fontos fajok teleomorfjai is ascuszos, azaz *tömlősgombák*.

4. Basidiomycota. A basidiumos gombák szexuális szaporítószerveinek nincs olyan egyértelmű gyűjtőneve, mint a tömlősgombákénak. Ennek elsődleges oka, hogy a basidiumos gombák a legmagasabb szerveződésű, többnyire a szabad természetben található gombák. Pontosan ezért, talán kevésbé alkalmasak magasabb rendű – emlős-, szárnyas stb. – gerincesek „parazitáiként" élni. Jellemző azonban, hogy a morfológiailag „sarjadzógombák" közé sorolt egyik basidiumos gombacsoport anamorf képviselője, a *Cryptococcus neoformans* az egyik legveszélyesebb kórokozó az immunszupprimált szervezetekben, pl. HIV-fertőzöttekben is. Ugyanez a gomba Ausztráliában egyes eukaliptuszfajokon, és az azokon „lakmározó" koalafajok székletében nagy mennyiségben található. Közép-Európában viszont ez a gomba a szárnyasok, elsősorban a városi, domesztikált *galambok* székletében található meg, *fokozott veszélyt* jelentve a galambokat etető, idős lakosság számára.

A gombák klinikai, patogenitási szempontból történő csoportosításával a részletes mikológia fejezetben ismerkedünk meg.

A protozoonok és férgek – Általános parazitológia

Pusztai Rozália

Az állati élősködőkkel, parazitákkal foglalkozó tudomány a parazitológia magába foglalja, a *protozoológiát (véglények tana)*, a *helmintológiát (féregtan)*, és az *entomológiát (rovartan)*.

A paraziták táplálkozás céljából – nevüknek megfelelően – rendszerint egy magasabb rendű szervezetben tartózkodnak, és azt különböző mértékben károsítják. Ezen fejezetben az orvosi szempontból jelentős parazitákat, az emberben élősködő egysejtű protozoonokat (protozoa) és a többsejtű férgeket (metazoa) ismertetjük. Bár az entomológia tárgyal a fertőző betegségek szempontjából fontos vektorokat, illetve terjedni képes élősködőket (pl. fejtetű), az előbbiekkel az egyes fertőzések kapcsán foglalkozunk, míg az utóbbiakat elsősorban majd a bőrgyógyászati tanulmányok során fogjuk megismerni.

A protozoonok biológiája

Osztályozás és morfológia

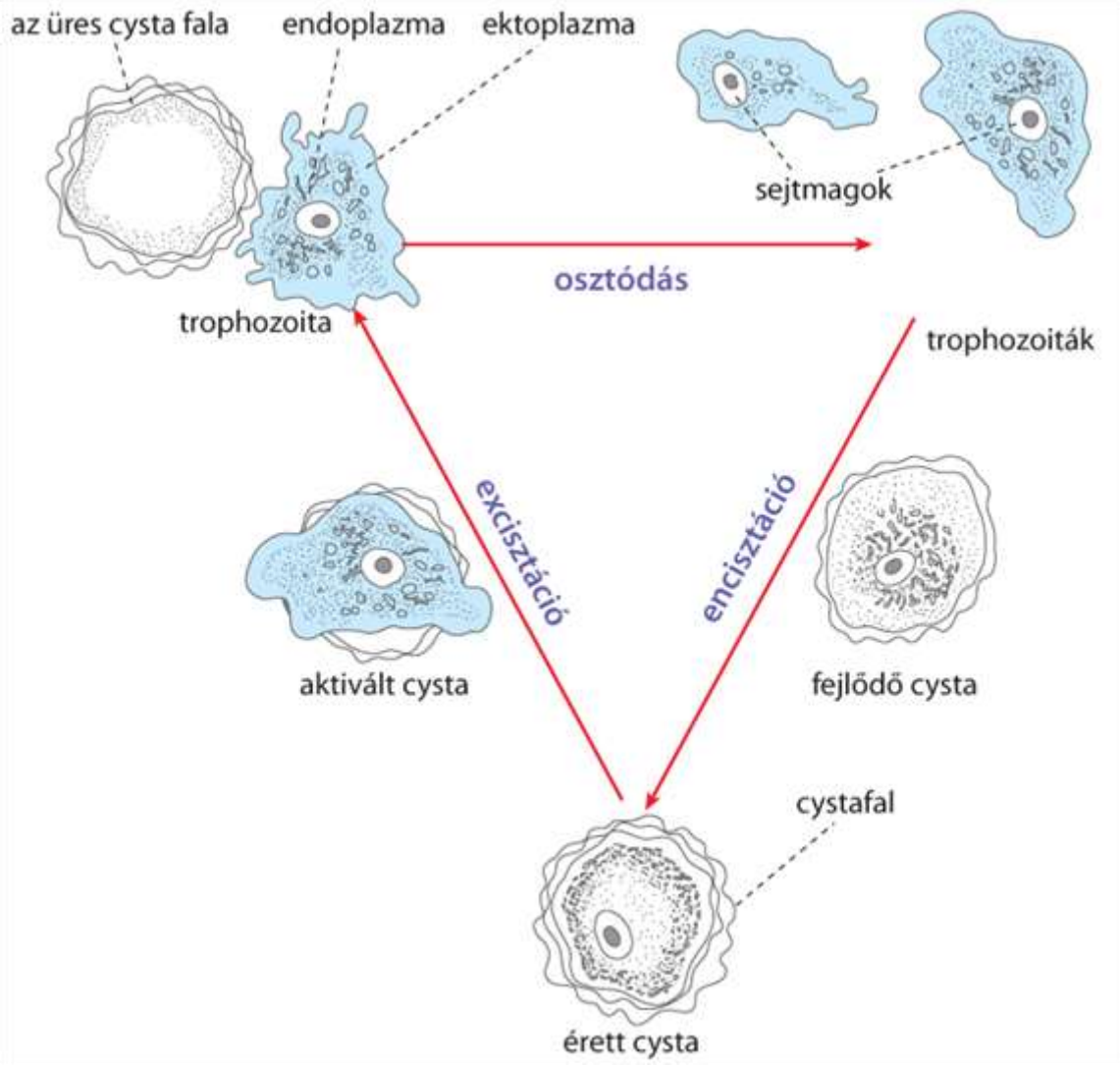
A protozoonok *eukarióták*, maggal, magvacskával és citoplazmával rendelkező *egysejtű lények*. A rendkívül nagyszámú protozoon faj közül csak néhány okoz emberben betegséget. Ezek a patogén fajok négy osztályba tartoznak: *Lobosea* (amoebák), *Zoomastigophora* (flagelláták, ostorosok), *Sporozoa* (spórások), *Ciliata* (csillósok) (**2.1.4. táblázat**).

2.4. táblázat - 2.1.4. táblázat. Az orvosi szempontból fontos protozoonok rendszertani csoportosítása

Subregnum	**Protozoa**			
Osztály	Lobosea	Zoomastigophora	Sporozoa	Ciliata

	(lebenyes állábúak)	(ostorosok)	(spórások)	(csillósok)
Nem (genus)	Entamoeba Neagleria Acanthamoeba	Chilomastix Giardia Dientamoeba Trichomonas Trypanosoma Leishmania	Isospora Cryptosporidium Plasmodium Toxoplasma	Balantidium

Az emberben élősködő protozoonok nagysága 2 µm-tól 100 µm-ig terjed. Egyes esetekben a nagyság fajon belül is változhat. Sok protozoonfajnak *két megjelenési formája* van (**2.1.37. ábra**).



2.1.37. ábra. A protozoonok megjelenési formái

A *vegetatív forma* a *trophozoita,* mely táplálkozik, mozog, szaporodik. Citoplazmája külső (*ektoplazma*) és belső (*endoplazma*) részre különül el, benne szemcsés *vakuolák* láthatók. Az optimális életkörülmények megszűnésekor (táplálékhiány, hőmérséklet-, pH-változás), vagy különböző kémiai anyagok hatására a protozoon egy vastag, ellenálló burkot képez, és kialakul a *nyugalmi alak,* a *ciszta*. A folyamatot *encisztációnak* nevezzük. A cisztában tartalék tápanyag és *több mag* található. A cisztáknak fontos szerepük van a protozoonos betegségek terjesztésében. A környezeti viszonyok optimálissá válásakor a cysta vizet vesz fel, és bekövetkezik az *excisztáció,* kialakul a vegetativ alak.

Egyes protozoonok mozgása speciális organellumokkal (*álláb, ostor, csilló*) történik.

Táplálkozás

A legtöbb protozoon táplálékát – eltérően a prokarióta egysejtűektől – szilárd formában kebelezi be. Egyes protozoonok szájnyílással, a *cytostomával* rendelkeznek. A táplálékot elsősorban baktériumok, algák, más protozoonok jelentik. A bekebelezés után a táplálék vakuolába kerül, ahol enzimek hatására oldható anyaggá bomlik. A közelmúlt izgalmas felfedezése, hogy vannak ezt túlélni képes baktériumok (pl. a legionellák), melyek az egysejtűekben egyenesen búvóhelyet találnak a külvilág rájuk nézve káros hatásai elől (lásd a Részletes Bakteriológia fejezetben).

Az oldott táplálék a citoplazmába jutva részint energiaforrást jelent a sejt számára, részint a sejt anyagainak szintézisére szolgál. Az emésztetlen anyagok vagy eltávoznak az *anális póruson, a cytopygen* (pl. a ciliaták esetén), vagy a felszínhez közel kerülve a vacuola megreped és a szabadba ürülnek (pl. az amoebaknál). A protozoonok közül a spórások nem képesek szilárd táplálékfelvételére, így ezek a baktériumokhoz hasonlóan táplálékoznak.

Szaporodás

A protozoonok mind *aszexuálisan,* mind *szexuálisan* szaporodnak. Az *aszexuáli*s szaporodás során a szülősejt osztódik és egy vagy több utód képződik. Az aszexuális szaporodás leggyakoribb formája az *osztódás*. A *többszörös osztódás vagy schizogonia* során először több magvú organizmus képződik, majd a citoplazma is osztódik és nagyszámú, egy magot tartalmazó sejt keletkezik.

A *szexuális* szaporodás két különnemű gameta egyesülésével, *syngamiájával* kezdődik. Az azonos alakú és nagyságú gameták az *isogameták,* az *isogamia* a ciliatak szaporodási módja. Az isogameták a megtermékenyítés érdekében ideiglenesen összeolvadnak. A jelenséget *konjugációnak* nevezzük.

Az egymástól jelentősen különböző ivarsejtek, gaméták az *anisogameták*: a hím egyedek a *microgameták*, a nőstények pedig a *macrogameták*. Az *anisogamia* a sporozoákra jellemző szaporodási mód. Az egyesült két különnemű gametából *zygota* képződik, amely burokba zárva (*oocysta*) akár a külvilágban, akár valamely alkalmas szervezetben sokszoros osztódás útján új egyedeket, a *sporozoitákat* hozza létre. Ez a folyamat a *sporogonia*.

A sporozoák *szaporodásiciklusavegyes*, amely sokszor gazdacserével is kapcsolatos. A *köztigazdában* az aszexuális szaporodás zajlik, míg a *végső gazda* az, amelyben a szexuális szaporodás megy végbe.

Rezisztencia

A protozoonok ellenállása a különböző fizikai behatásokkal szemben általában hasonló az egyéb egysejtű organizmusokéhoz. A kiszáradást és a magasabb hőmérsékletet rosszul tűrik, a ciszta is órákon belül elpusztul. Nedves közegben, szobahőmérsékleten 8–10 napig, vízben 3-4 hétig, alacsonyabb hőmérsékleten pedig akár több hónapon át fertőzőképesek. Vegyszerekkel szemben a protozoonok rezisztenciája általában fokozottabb, mint a baktériumoké, és különösen rezisztensek a ciszták: a szokványosan használt fertőtlenítőszerek nagy része nem károsítja őket. A szappanos-krezol készítményekkel szemben a legérzékenyebbek, amelyeknek 4-5%-os oldata 5–10 perc alatt a cisztákat is elpusztítja.

A férgek biológiája

A human patogén férgek osztályozását a **2.1.5. táblázat** mutatja.

2.5. táblázat - 2.1.5. táblázat. Az orvosi szempontból fontos férgek rendszertani csoportosítása

Subregnum	**Metazoa**			
Törzs	Platyhelminthes (laposférgek)		Nematoda (fonalférgek)	
Osztály	Trematoda (mételyek)	Cestoidea (szalagférgek)	Secernentea (érzékpálcásak)	Adenophorea (érzékpálca nélküliek)
Nem (genus)	Fasciola Schistosoma Paragonimus	Diphyllobotrium Hymenolepis Taenia Echinococcus Dipylidium	Enterobius Ascaris Toxocara Ancylostoma Necator Stronglyloides Wuchereria Loa Oncocerca Dracunculus	Trichinella Trichuris

A férgek *soksejtű* organizmusok, egyesek jól fejlett, differenciált szervekkel rendelkeznek. Számos képviselőjük élősködik a bélben, egyesek eljutnak a májba, tüdőbe, vérbe, a bőralatti kötőszövetbe vagy az agyba. Rendszerint szabad szemmel is láthatók (< 1mm-től 1 vagy több

m hosszúak is lehetnek), azonban a fertőzöttség kimutatása mikroszkópos vizsgálatot igényel: jellegzetes petéiket így lehet identifikálni.

Táplálékukat a gazdaszervezet testnedveiből, emésztett szöveteiből vagy béltartalmából nyerik. Számos féreg izomműködéséhez jelentős energiát igényel. A férgek élettartalma hetek, hónapok, de egyesek, mint a horgasféreg, évtizedekig is élhetnek a gazdában.

A laposférgek (*Platyhelminthes*) a legprimitívebb férgek, nincsen emésztőrendszerük, vagy csak csökevényes. Laposak, alakjuk levélhez, vagy mérőszalaghoz hasonlít, a legtöbb esetben hímnősek (*hermafroditák*). Sok féreg életciklusa bonyolult, és fejlődésük során gazdacserét igényelnek. Az ember rendszerint a végső gazda, míg a lárvastádiumban állatok a köztigazdák.

A galandférgek (*Cestoda*) rendszerint hosszúak, ízekből (*proglottis*) állnak. A fejen (*scolex*) szívókák vagy szívógödrök találhatók. A scolex elülső mellső végén gyakran kúp, vagy más alakú, tasakba visszahúzható kisebb-nagyobb képlet az ún. *rostellum* található. Ezen fajok fején gyakran 1-2, esetleg több sorban horgok találhatók, melyek alakja, nagysága a fajokra jellemző. A scolexet a *nyak* köti az éretlen proglottisokhoz. Az érett proglottisok hím és nőstény *ivarszervekkel* rendelkeznek. Ezekben találhatók a megtermékenyített *peték*. Az érett ízek a féregről leválnak, és a külvilágba jutnak. Egyes fajok embrionális fejlődése az ízekben, másoké a talajba, vagy a vízbe jutott petékben folytatódik. A posztembrionális fejlődés egy vagy több köztigazda szervezetében megy végbe, ahol különféle felépítésű lárvaformák alakulnak ki.

A mételyek *(Trematoda)* alakja megnyúlt levél-, lándzsaszerű. Két *szívókorongjuk* van, egyik a *szájnyílás* körül, a másik lejjebb a hasi oldalon, mellyel a féreg a gazda szöveteihez tapad. Életciklusuk bonyolult, a legtöbb *hermafrodita*. A petéből a *csillós lárva, a miracidium* kel ki. Alkalmas köztigazdába (pl. csiga) fúródva egyszerű hosszú, zsákszerű *lárvává, a sporocisztává* alakul át. A sporociszta a csiga májszövetébe vándorol, benne a csírasejtek száma növekszik. A schistosomák kivételével a többi faj sporocisztáiban morfológiai változás következik be. Kialakulnak a *rediák* (*szájjal és emésztőtraktussal rendelkező lárvák*). Ezekből képződnek a *végső lárva alakok, a cercariák*. Ezek a fertőzőképes formák farki nyúlványaikkal élénken mozognak. A schistosomák sporocisztáiban végbemenő aszexuális szaporodás eredménye a mozgó *cercaria*. A cercariák a vízben lévő végső gazda ép bőrén aktívan átjutnak (pl. schistosomák), vagy a szabadban (pl. *Fasciola),* vagy újabb köztigazdában *encisztálódnak* (pl. *Paragonimus*). A két utóbbi esetben a végső gazda az encisztálódott, és nyersen elfogyasztott *metacercariák* révén fertőződik. A végső gazdába jutott cercaria farkát elveszti és *ivarérett féreggé* fejlődik.

Fonálférgek (*Nematoda*). A törzs osztályai közül human patológiai szempontból a *Secernentea* és *az Adenophorea* osztálynak van jelentősége (2.1.5. táblázat). Fonál vagy orsó alakúak, hosszúságuk és vastagságuk változatos. Rendszerint jól fejlett emésztőtraktussal és ivarszervekkel rendelkező férgek. Kevés kivétellel váltivarúak. A hímek rendszerint rövidebbek a nőstényeknél. A hímek farki vége bekunkorodott, a nőstényeké egyenes.

Fejlődésükbe két, biológiailag elkülöníthető szakaszt különböztetünk meg. Az *embrionálisfejlődés* a fajra jellemző módon indul el. Aszerint, hogy a barázdálódás hol kezdődik és fejeződik be, illetve a lerakott pete az embrionális fejlődés milyen szakaszát érte el a fonalférgeket három csoportba osztjuk :

oviparok, nőstényeik nem barázdálódott petéket raknak (pl. *A. lumblicoides*),

ovoviviparok, nőstényeik a barázdálódás bizonyos szakaszában lévő petéket raknak (pl. *E. vermicularis*)

viviparok, nőstényeik eleven lárvákat szülnek (pl. *T. spiralis*).

Fejlődésük második szakaszában a *posztembrionálisfejlődés* általában két részre oszlik, az első a lárva második vedlésének befejezéséig, a második pedig újabb két vedlés után az ivarérettség eléréséig tart.

- tartalomjegyzék
- adatlap

Az orvosi mikrobiológia tankönyve
ELŐSZÓ
1. BEVEZETÉS
1.1. A mikrobiológia története
A mikrobiológia, az orvosi és a klinikai mikrobiológia tárgya
2.ÁLTALÁNOS ORVOSI MIKROBIOLÓGIA
A MIKROBÁK
2.2. A MIKROBÁK ÉS A GAZDASZERVEZET KÖLCSÖNHATÁSAI
2.3. IMMUNITÁS
2.4. DIAGNOSZTIKA, TERÁPIA, MEGELŐZÉS
3. RÉSZLETES MIKROBIOLÓGIA
3.1. PRIONBETEGSÉGEK
3.2. RÉSZLETES VIROLÓGIA
3.3. RÉSZLETES BAKTERIOLÓGIA
3.4. RÉSZLETES MIKOLÓGIA
3.5. RÉSZLETES PARAZITOLÓGIA
4. BEVEZETÉS A KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁBA
4.1. A HÚGYÚTI FERTŐZÉSEK KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁJA
4.2. LÉGÚTI FERTŐZÉSEK KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁJA
4.3. AZ ENTERÁLIS KÓRKÉPEK KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁJA
4.4. AZ KÖZPONTI IDEGRENDSZER FERTŐZÉSEINEK KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁJA
4.5. A BŐR, AZ IZOMZAT ÉS A VÁZRENDSZER FERTŐZÉSEINEK KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁJA
4.6. SZEXUÁLIS ÚTON TERJEDŐ BETEGSÉGEK KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁJA
4.7. SZEPSZIS KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁJA
4.8. CSÖKKENT VÉDEKEZŐKÉPESSÉGŰ BETEGEK INFEKCIÓINAK KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁJA
4.9. A HASŰRI INFEKCIÓK KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁJA
4.10. FOGÁSZATI FERTŐZÉSEK KLINIKAI MIKROBIOLÓGIÁJA