

# BIOKÉMIA

A MAGYAR BIOKÉMIAI TÁRSASÁG TÁJÉKOZTATÓJA  
IV.évf.1.szám 1980.március

Szerkesztő Bizottság : ALKONYI István, ANTONI Ferenc, BAGDY Dániel,  
GARZÓ Tamás, GERGELY Pál, GUBA Ferenc,  
NAGY Ágnes, SZÁSZ Ilma

Felelős szerkesztő : BAGDY Dániel

Technikai szerkesztők: BÖLÖNI Erzsébet, JURÁCSIK János

A tartalomból :

I d ő s z e r ű k é r d é s e k

Fehérje fluktuáció és funkció

Az in vitro DNS rekombinációs technika néhány alkalmazási lehetősége

T a n u l m á n y u t i b e s z á m o l ó

+

Biokémiai o k t a t á s szerte a világon

+

Tallózás a TRENDS in BIOCHEMICAL SCIENCES lapjain

Az immunkémia születése és fejlődése

Génsebészet és az evolúció

+

H i r e k é s e s e m é n y e k

E szám szerzői :

ALKONYI István egy.tanár, POTE Biokémiai intézet

DAMJANOVICH Sándor egy.tanár, DOTE Biofizikai intézet

GARZÓ Tamás egy.adjunktus SOTE I.sz.Kémiai Biokémiai intézet

KISS Antal tud.munkatárs , MTA SzBK Biokémiai Intézet

MOLNÁR János egy.tanár SZOTE Biológiai Intézet

T.SZABÓ Mária egy.docens SOTE I.Kémiai Biokémiai Intézet

SZENTIRMAI Attila tud.osztályvezető Gyógyszerkutató Intézet

ZÁVODSZKY Péter a biol.tud.kandidátusa MTA Enzimológiai Intézet

o-o-o-o-o-o-o-o

o-o-o-o-o-o-o-o

o

# időszerű KÉRDÉSEK

## FEHÉRJE FLUKTUÁCIÓ ÉS FUNKCIÓ

Ismereteink a fehérjék belső mozgásának természetéről és jelentőségéről meglehetősen szegényesek, annak ellenére, hogy Linderström-Lang már az 50-es évek közepén bevezette az oldószer kicserélődési kinetikai módszerét. E módszer segítségével /amelynek során a fehérje hidrogén atomjait deutériummal vagy tritiummal lecserélik, és a lecserélődés sebességi állandóit jelzik, hogy a fehérje könnyen és nehezebben lecserélhető hidrogénjei milyen arányban fordulnak elő/ szolgáltatották az első bizonyítékokat arra vonatkozóan, hogy a fehérjék nem merev testek, hanem hajlékony, dinamikus strukturák. Az elmúlt 25 évben a módszertani repertoír jelentősen kibővült, és a fehérjék dinamikáját különböző optikai és rezonancia spektroszkópiai módszerekkel, sőt krisztallográfia segítségével is vizsgálják. Ez utóbbit természetesen különböző hőmérsékletű pontok egész sokaságán, és a kapott, kevésbé eltérő képekből állapítják meg, hogy melyek a fehérjék legflexibilisebb részei. A fehérjék mozgásáról több jelentős összefoglaló munkát közöltek, így a bevezetés további részletezése könnyebbé tehető /Gurd és Rothgeb, 1979; Careri és mtsai, 1979; Damjanovich és Somogyi, 1978/. A fehérjék mozgásának vizsgálatára jelenleg rendelkezésre álló módszerek vagy tulságosan indirektek, vagy tulságosan komplikáltak ahhoz, hogy a fehérje molekulák mozgása és funkciója közötti direkt korrelációt könnyen vizsgálhatóvá tegyék. A McCammon és Karplus által végzett elméleti számítások csak kisebb polipeptid láncok vagy fehérje oldalláncok pikoszekundumos mozgását írják le, anélkül, hogy a kvantumkémiai számítások ismert nehézségei miatt azokat érdemben összekapcsolnák a fehérjék egyéb /pl. enzim/ funkciójával /McCammon és Karplus, 1979; McCammon és mtsai, 1979/.

Számos rendkívül fontos elmélet tárgyalja a fehérjék belső mozgásának, az enzímfunkciónak és a regulációnak a kapcsolatát. Csak a klasszikusnak számítókat említve ilyen pl. Koshland indukált alkalmassági /Induced fit/ és molekulapálya-irányítási /orbital steering/, Monod és Jacob allosztérikus szabályozási, Straub és Szabolcsi fluktuációs alkalmassági /fluctuation fit/ elmélete. Természetesen ezek közül nem mind vette egyformán számításba a fehérjék strukturája, környezete és hőmérséklete által megszabott periódikus mozgásokat.

Intézetünkben az elmúlt tíz évben kifejlesztettünk egy olyan molekuláris enzímkinetikai modellt /MEKM/, amely a környezet és a fehérjemolekulák dinamikus kölcsönhatásából vezeti le a szubsztrát kötés és a katalízis mechanizmusát, továbbá explicit fizikai mennyiségek felhasználásával a fenomenológikus kinetikai konstansoknak molekula fizikai értelmezését teszi lehetővé. Ennek bizonyítása nem egyszerű feladat, mivel ez nem kevesebbet kívánna, mint annak egzakt igazolását, hogy a fehérjék dinamikus mozgása és az enzím katalízis direkt kapcsolatban állnak /Somogyi és Damjanovich, 1971; 1975; Damjanovich és Somogyi, 1973; 1978/. Eddig csak Nakanishi és mtsai /1972/ és Freunfelder és mtsai /1979/ tudták kísérletileg igazolni, hogy a ligand-kötődés és a fehérjék mozgása között kapcsolat van.

Intézetünkben a közelmúltban két úton próbáltunk közelebbi információt nyerni a fluktuáció és a funkció közötti kapcsolatáról.

Az első megközelítés azt a jelenséget használta fel, amit Lakowicz és Weber 1973-ban alkalmazott először a fehérje fluktuáció vizsgálatára. Ez a fehérjék triptofán reziduumainak  $O_2$  által történő fluoreszcencia kioltása. Eftink és Ghiron /1975; 1976; 1977/ ugyanerre a célra az akrilamidot alkalmazta. Egyikük sem próbálta meg a fluoreszcencia kioltás és az enzímfunkció

megváltozása közötti esetleges korrelációt keresni, bár Ettink és Ghiron felfigyelt arra, hogy a tripszin és a pepszin aktivitása kismértékben, a bonyolultabb szerkezetű aildolázé pedig erősebben csökken, ha akrilamiddal kezelik.

Mi az alegységszerkezettel rendelkező /dimer/ és monomerenként 12 triptofánt tartalmazó foszforiláz b-t választottuk kísérleteink tárgyául. Megállapítottuk azokat az akrilamid koncentrációkat, amelyek 4 órás inkubálás után sem okoztak észrevehető denaturációt. Azonban ebben a koncentráció-tartományban is észleltünk egy, az akrilamid hozzáadása után azonnal bekövetkező 15-40 %-os aktivitás-csökkenést, ami azonban időben nem fokozódott és teljesen reverzibilis volt, ha az akrilamidot kihígítottuk. A triptofán reziduomok abszorpciós és fluoreszcencia spektrumának vizsgálata nem utalt semmilyen konformációs változásra akrilamid jelenlétében. A fluoreszcencia intenzitás viszont jelentősen /és ugyancsak reverzibilisen/ csökkent. Fluoreszcencia élettartam mérések és különböző Stern-Volmer típusú egyenletek alapján történő analízisek meggyőzték bennünket a következőkről:

1. Az akrilamid fluoreszcencia kiltása reverzibilis és nem függ össze észlelhető konformációváltozással.

2. A krisztallográfias adatok és saját jódkiltási kísérleteink szerint a fehérje felszínéhez közel lévő triptofánokon kívül a molekula belsőjében elhelyezkedő triptofánok is elérhetőek az akrilamid számára: azaz a molekulán belül az akrilamid csak a fehérje matrix mozgása által korlátozva, viszonylag szabadon diffundál.

3. A triptofán fluoreszcencia élettartamának mért rövidülése és a többi adat együttes analízise arra mutat, hogy az akrilamid fluoreszcencia

kioltása a foszforiláz esetében is a fehérje fluktuációjának a jelzője.

4. Az aktivitás gátlása nem járt együtt egyetlen ligand kötődésének a gátlásával sem.

5. Az aktivitás gátlás és a triptofán fluoreszcencia kioltás /az akrilamidnak csak a fehérje fluktuációját által befolyásolt mozgását jelző paraméter/ lineáris korrelációt mutatott.

Számos egyéb, főleg hőmérséklet-függő mérésből és a fentiekből származott az a következtetésünk, hogy az akrilamid a fehérje belsejében nemcsak a triptofán fluoreszcencia kioltásáért felelős, de akadályozza a fehérje fluktuációját. Ennek a fluktuációt akadályozó hatásnak tulajdonítjuk a más hipotézissel nagyon nehezen vagy egyáltalán nem magyarázható reverzibilis aktivitás-gátlást is. Elképzelésünk szerint a fehérjemolekulák egy része, ha a fehérje belsejében bizonyítottan bentlévő akrilamid molekulák valamelyike, vagy egy együttese megfelelő helyzetbe kerül, időlegesen inaktív válik, amíg az akrilamid molekulák el nem mozdulnak. Ez nem zárja ki az akrilamid és a fehérje bármely erre alkalmas oldalláncának időleges, Van der Waals típusu kölcsönhatását. A teljesen aktív és az akrilamid által részlegesen gátolt minták aktivációs energiájának a változatlan volta és az ugyan-csak változatlan ligand kötődés erős érveket szolgáltat a fenti hipotézis alátámasztására.

Ez a kísérleti modell, tudásunk szerint, az első próbálkozás arra, hogy a fehérje mozgás és a funkció között egyidejű, kísérletesen igazolható összefüggést keressen.

Természetesen a fluoreszcencia kioltás mellett más lehetőségek is rendelkezésre állnak a fehérjék dinamikájának vizsgálatára. Számos ide vonatkozó kísérletünk közül a fluoreszcencia energiatranszfer paraméterek hőmérséklet-

-függő változásait emelném ki. Ez, az általunk jelenleg kidolgozás és bevezetés alatt álló módszer elvében egy kicsit hasonlít a hőmérséklet-függő krisztallográfiás mérésekhez. Itt is kitüntetett pontok közötti távolságok, ill. orientációs szögek változásán keresztül következtetünk a fluktuáció fokozódására ill. csökkenésére.

Összefoglalva e rövid és leíró jellegű ismertetést, a fehérje fluktuáció és funkció közötti kapcsolatot illetően mi optimistábbak vagyunk Careri-nél. Szerinte, a katalízissel kapcsolatba hozható fluktuációt eddig nem figyeltek meg. Ez igaz. A további kijelentés viszont - amely szerint nem is fognak, bár a keresztkorreláció Careri szerint is létezik - túl pesszimistának tűnik, még ha csak az itt leírt szerény kezdetek további perspektívát nézzük is.

#### IRODALOM

- Gurd, F.R.N., Rothgeb, T.M. /1979/ In: Advances in Protein Chemistry /Eds., Anfinsen, C.B., Edsall, J.T., Richards, F.M./ Vol.33. Acad.Press, N.Y., 74-165.
- Careri, G., Fasella, P., Gratton, E. /1979/ Ann.Rev.Biophys.Bioeng. 8, 69-97.
- Damjanovich, S., Somogyi, B. /1978/ In: New Trends in the Description of the General Mechanism and Regulation of Enzymes /Eds., Damjanovich, S., Elődi, P., Somogyi, B./ Symp.Biol.Hung. 21. Akad.Kiad. Bp., 169-184.
- McCammon, J.A., Karplus, M. /1979/ Proc.Natl.Acad.Sci.USA 76, 3585-3589.
- McCammon, J.A., Wolynes, P.G., Karplus, M. /1979/ Biochemistry 18, 927-942.

Somogyi, B., Damjanovich, S. /1971/ Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 6,  
353-364.

Somogyi, B., Damjanovich, S. /1975/ J. Theor. Biol. 51, 393-401.

Damjanovich, S., Somogyi, B. /1973/ J. Theor. Biol. 41, 567-569.

Nakanishi, M., Tsuboi, M., Ikegami, A. /1972/ J. Mol. Biol. 70, 351-361.

Freuenfelder, H., Petsko, G. A., Tsernoglou, D. /1979/ Nature 280, 558-563.

Eftink, M. R., Ghiron, C. A. /1975/ Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72, 3290-3294.

Eftink, M. R., Ghiron, C. A. /1976/ Biochemistry 15, 672-680.

Eftink, M. R., Ghiron, C. A. /1977/ Biochemistry 16, 5546-5551.

DAMJANOVICH SÁNDOR

AZ IN VITRO DNS REKOMBINÁCIÓS TECHNIKA NÉHÁNY  
ALKALMAZÁSI LEHETŐSÉGE<sup>†</sup>

Az utóbbi évek molekuláris biológiájának legnagyobb jelentőségű felfedezése az in vitro DNS rekombináció, vagy genetic engineering ill. néhány ezzel kapcsolatos technika kialakulása volt. Fejlődése a 70-es évek elején kezdődött meg a DNS-t szekvencia-specifikusan hasító endonukleázok, a restrikciós enzimek felfedezésével. Ezeknek az enzimeknek az alkalmazásával vált lehetővé, hogy a DNS molekulát specifikusan és reprodukálhatóan fragmentáljuk, és ezzel hozzáférhetővé tegyük részletes szerkezetvizsgálat számára, beleértve a szekvenciázást is.

A fejlődés következő nagy lépése az volt, amikor különböző eredetű DNS-ek darabjait in vitro egymáshoz kapcsolták, majd a sejtben replikációt biztosító vektor segítségével új gazdába juttatták.

---

<sup>†</sup>A Magyar Biokémiai Társaság 1979. évi szegedi Vándorgyűlésén megtartott SZÖRENYI Imre emlékelőadás nyomán.

Az in vitro DNS rekombináció segítségével vált lehetővé a gének izolálása, másnéven génklónozás. A potenciális gyakorlati jelentőség mellett ez megnyitotta az utat a génszerkezet és génműködés minden eddigénél alaposabb vizsgálatához. Itt saját eredményeink alapján szeretnék az ezen a területen végzett munkáról, a módszer néhány alkalmazási lehetőségéről beszélni.

### Az eszközök fejlesztése

Kezdetben igen sok laboratórium munkájában tekintélyes teret foglalt el a metodikák kidolgozására irányuló kutatás. Különösen sokan foglalkoztak restriktív enzimekkel és a vektorok kifejlesztésével.

Azt nyugodtan mondhatjuk, hogy a rekombináns DNS technológia kialakulásához a döntő lökést a restriktív enzimek felfedezése jelentette. Ezt ismerte el az 1978-ban kiadott 3 orvosi Nobel-díj. A gyakorlati alkalmazás szempontjából fontos II. típusú enzimek közül az első Smith és Wilcox izolálta 1970-ben Haemophilus influenzae-ből /1/. A DNS elektroforézis tökéletesítése, ami egyszerű enzimkimutatási eljárást biztosított és az a tény, hogy most már tudatosan kerestek ilyen enzimeket, a restriktív endonukleázok számának ugrásszerű növekedéséhez vezetett. Jelenleg kb. 200 féle restriktív enzim ismert, amelyek - szekvenciázással igazoltan - legalább 50 különböző specifikitást képviselnek /2/.

A szerencse révén mi is hozzájárultunk a restriktív enzim arzenálnak a bővítéséhez. Egy fertőzött tenyészetből izoláltunk egy baktériumot, amiben igen nagy mennyiségű restriktív enzimet találtunk. A törzset később B. sphaericusként azonosítottuk, így az általánosan elfogadott nevezéktanuk megfelelően az enzim a Bsp nevet kapta /3/. Ismert specifikitású enzimmel /Bsu/ összehasonlítva megállapítottuk, hogy a Bsp által felismert szekvencia GGCC.

Már ismert volt több GGCC specifikitású restriktív enzim, a Bsp mégis jelentős, mert gyakorlati célokra, DNS analízisre a bősége, stabilitása, könnyű tisztíthatósága révén alkalmasabb, mint a többi. A rendelkezésre álló adatok alapján ez a B. sphaericus törzs az eddig ismert legbőségesebb restriktív enzim forrás.



A restriktív enzimek többségének jellemzése ennél a pontnál, tehát a specifitás megállapításánál és egy részleges tisztítási eljárás kidolgozásánál meg is áll, így a széleskörű felhasználás ellenére nagyon kevés adat van az enzimológiájukról. Ugy éreztük, hogy a Bsp előnyös tulajdonságai megérdemlik, hogy az enzimet a szokásosnál egy kicsit részletesebben jellemezzük.

Mindenekelőtt homogenitásig tisztítottuk az enzimet. /4/ Molekulasúlyát natív és denaturáló körülmények között egyaránt 35000-nek találtuk, amiből arra következtettünk, hogy az enzim egyetlen alegységből áll. Ez különbség az összes eddig ilyen tekintetben megvizsgált restriktív enzimhez képest, melyek natív állapotban azonos alegységekből álló dimerek, vagy tetramerek.

Megvizsgáltuk az enzim magnézium és pH függését, az optimumot 20 mM-nak, ill. 8,2-nek találtuk.

Megállapítottuk, hogy a Bsp nemcsak kettőszáлу, hanem egyes száлу DNS-t is hasít, ha kisebb aktivitással is. Annak eldöntésére, hogy az egyszáлу DNS-t ugyanazoknál a szekvenciáknál hasítja-e, mint a kétszálut, a következő kísérletet végeztük. <sup>32</sup>P-jelzett  $\phi$ X 174 fág DNS-t, tehát egyszáлу DNS-t emésztettünk Bsp-vel és denaturáló gélen együtt futtattunk olyan kétszáлу  $\phi$ X DNS emésztményével, amelynek csak a virális szála volt jelzett. Az autoradiogrammon a két mintázat azonos volt, ami azt bizonyítja, hogy az egyszáлу és kétszáлу DNS-en megegyeznek a hasítási helyek. Ugyanezt a képet kaptuk akkor is, ha olyan kétszáлу DNS-t emésztettünk, aminek az egyik szála Bsp-specifikusan metilált, azaz a Bsp hasítással szemben teljes egészében rezisztens volt. Ez azt jelenti, hogy a kétszáлу DNS egyik szálának modifikálása nem védi meg a kiegészítő szálat a restriktív enzimes emésztéstől.

A továbbiakban megvizsgáltuk, hogy jogos-e a Bsp-t az eredeti értelemben /5/ vett restriktív enzimnek tekinteni. Valamennyi szekvenciaspecifikus endonukleázt restriktív enzimnek neveznek, pedig nagy többségükről nem tudjuk, hogy részei-e bakteriális restriktív-modifikációs rendszernek. A klasszikus modell szerint egy ilyen rendszer egy enzimpárból áll, mégpedig egy szekvenciaspecifikus endonukleázból és egy ugyanolyan szekvenciát felismerő metilázból, ami a felismerőhelyek metilálásával megvédi a sejt saját DNS-ét az endonukleáztól.

Azt találtuk, hogy a *Bacillus sphaericus*ból izolált DNS rezisztens a Bsp-vel szemben, és sikerült kimutatnunk a sejtben a keresett modifikációs metilázaktivitást, amivel különböző DNS-eket inkubálva, azok rezisztensé válnak a Bsp hasításra. Megállapítottuk, hogy a metilált bázis citozin. Az enzimet részlegesen tisztítottuk, és meghatároztuk a molekulasúlyát /52000/.

A Bsp endonukleáz és metiláz, lévén azonos szubsztrátot felismerő, de különböző aktivitásu enzimek, kitűnő rendszernek látszanak szekvenciaspecifikus DNS-fehérje kölcsönhatás tanulmányozására. Bennünket elsősorban az enzimek génjei érdekeltek, ezzel kapcsolatos munkánkra a későbbiekben még visszatérek.

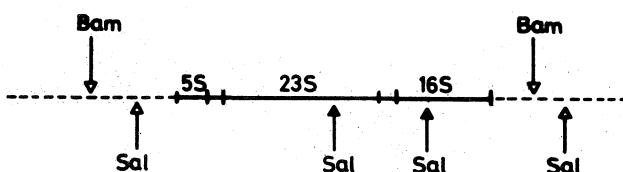
### Restriktív enzimek felhasználása biológiai kérdések megválaszolására

A rekombináns DNS technológia kifejlesztésében a restriktív enzimek felfedezése mellett döntő fontosságú volt a DNS szeparálási technikák, elsősorban az elektroforetikus elválasztás tökéletesítése. Ezzel kapcsolatban kell a kidolgozójáról Southern-módszernek nevezett eljárást kiemelnünk. Ezzel a módszerrel egy gén egy restriktív fragmenten lokalizálható, ha a génre specifikus hibridizációs próba a rendelkezésünkre áll /6/.

A módszer röviden a következő: A vizsgálandó DNS-t restriktív enzimmel megemésztjük, a fragmenteket elektroforézissel egy lapgélben elválasztjuk, majd a gélből folyadékáram segítségével a géltre fektetett nitrocellulóz lapra visszük. A nitrocellulózhoz tapadt fragmentek elhelyezkedése ugyanaz, mint a gélben. Ezután radioaktív RNS-sel, vagy DNS-sel hibridizálunk a filterhez, a próba csak ahhoz a fragmenthez kötődik, ahol komplementer szekvencia van. A hibridizáló fragment ezután autoradiográfiásan azonosítható. Természetesen, ha egy komplex fragmenthalmazzal van dolgunk, ahol az egyes fragmentek nem különíthetők el, csak azt tudjuk megmondani, hogy a hibridizáló DNS darab milyen molekulasúlyú.

Mi ezt a módszert az *E. coli* riboszómális RNS génjeinek a vizsgálatára alkalmaztuk. Sikerült vele egy régi problémát eldönteni, azt, hogy hány riboszómális RNS génje van az *Escherichia coli*-nak. Telítési hibridizációs adatokból korábban 5 és 10 közöttinek gondolták.

Csoportunkban részletes restrikciós térkép készült az egyik - többek között - egy rRNS gént /rrnB/ is transzdukáló fág, a  $\lambda$ rifd18 DNS-éről /7/. Ezekből az adatokból tudtuk, hogy a Bam enzim nem vág bele a riboszómális RNS génbe. Egy másik restrikciós enzimről, a Sal-ról pedig ismert volt, hogy van egy hasítóhelye a 16S és egy a 23S RNS génben. A riboszómális RNS-re vonatkozó szekven-  
cia-adatok azt mutatták, hogy az rRNS gének nagymértékben homológok, azaz valószínű volt, hogy a többi rRNS génben sincs Bam hely, és a Sal helyek lokalizációja minden génen belül olyan, mint a  $\lambda$ rifd18-on lévőben /1. ábra/.

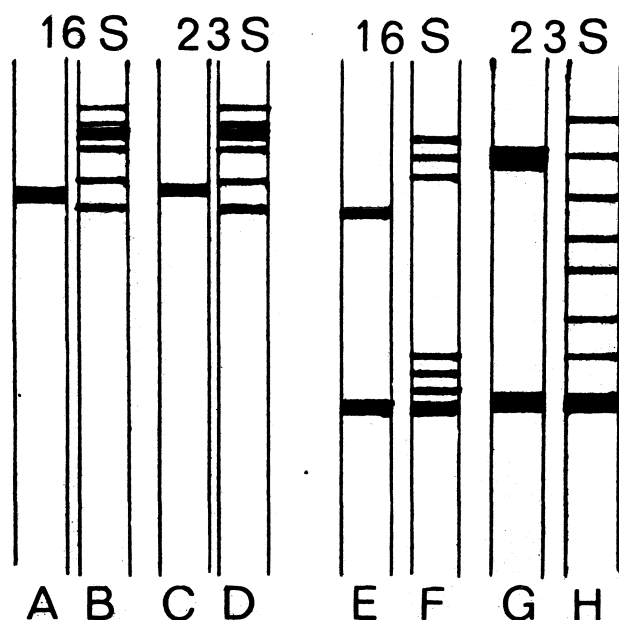


1. ábra. Bam és Sal hasítási helyek egy rRNS génben és környezetében

- ↓ ismert lokalizációjú hasítási hely
- ↓ ismeretlen lokalizációjú hasítási hely

A riboszómális RNS gének a kromoszómán elszórva, különböző környezetben helyezkednek el. Ha a feltételezésünk igaz, és a Bam nem vág bele a génbe, akkor a kromoszómális DNS-t Bam-mal megemésztve mindegyik rRNS gén egészben fog egy hosszabb-rövidebb Bam fragmentumra kerülni. A hibridizáló fragmentek száma meg kell egyezzen a gének számával.

Sal-lal megemésztve mindegyik génből kapnunk kell egy 16S és 23S RNS-sel is hibridizáló középső fragmentet, ami minden génben azonos nagyságu, ezenkívül egy génenként különböző nagyságu, csak 16S-sel és egy szintén génenként különböző nagyságu, csak 23S-sel hibridizáló fragmentet /1. ábra/.



2. ábra: Riboszómális RNS hibridizálása restriktív enzimekkel emésztett  $\lambda$ rifd18 és E.coli DNS-hez

ACEG:  $\lambda$ rifd18 DNS

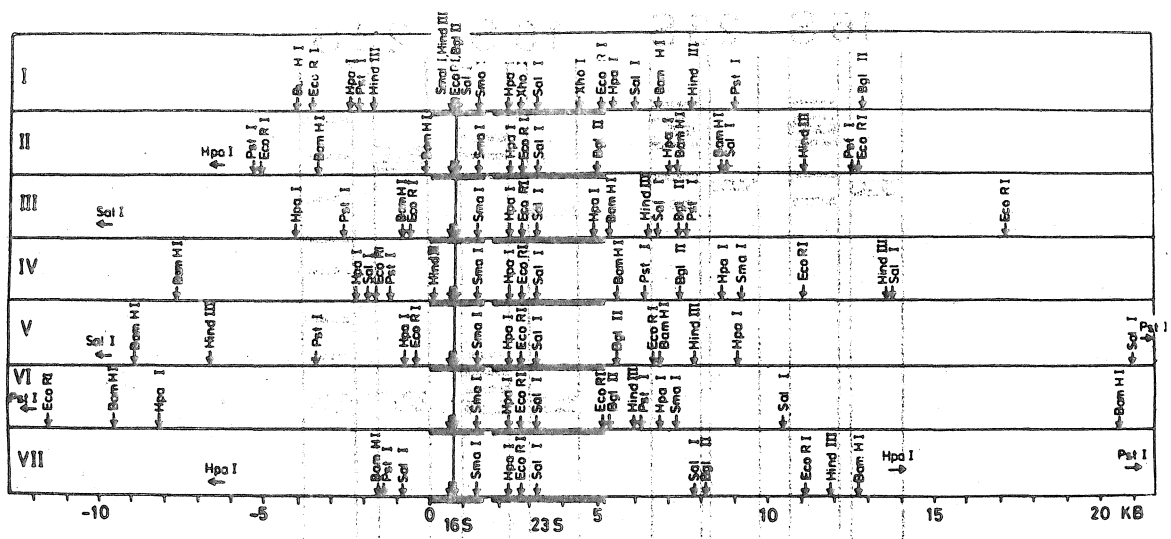
BDFH: E.coli DNS

ABCD: Bam emésztés

EFGH: Sal emésztés

A kísérlet teljesen egyértelmű választ adott /2. ábra/. A coli DNS-t Bam-mal megemésztve és 16S és 23S RNS-sel hibridizálva teljesen azonos mintázatot kaptunk, a csíkok száma 7. Sal-lal emésztve a csak 16S-sel és csak 23S-sel hibridizáló fragmentek száma ugyancsak 7. Ebből következően a colinak 7 riboszómális RNS-t kódoló génje van /8/.

A továbbiakban restriktív térképet készítettünk a 7rRNS génről és környezetéről /9/. A térkép elkészítésének technikája az volt, hogy különböző restriktív enzimekkel és enzimkombinációkkal emésztettük a coli DNS-t, elektroforézis után nitrocellulózra vittük és jelölt riboszómális RNS-sel hibridizáltuk. A térkép elkészítésénél figyelembe vettünk a hibridizáló fragmentek számán és molekulasúlyán kívül néhány transzdukáló fagon és plazmidon lévő rRNS géne vonatkozó adatot.



3. ábra. A 7 rRNS gén fizikai térképe

A térkép nagyfokú heterogenitást mutat az rRNS gének környezetében, de maguk a strukturgének sem teljesen azonosak. A térkép jelentőségét elsősorban abban látjuk, hogy segítségével ellenőrizni lehet a klónozott, vagy transzdukáló fágon lévő riboszómális gének épségét. A kísérleti tapasztalat azt mutatja, hogy ezek a gének gyakran rekombinálódnak és plazmidon labilisak. Éppen ennek a térképnek a segítségével sikerült megállapítanunk, hogy a  $\lambda$ daró transzdukáló fágon lévő rRNS gén, amit sokáig autentikusnak tekintettek /10/, nem egyezik meg egyik kromoszómán lévő génnel sem, hanem valószínűleg két rRNS gén rekombinációjának eredménye.

Az in vitro DNS rekombináció felhasználása géntisztításra

Ahhoz, hogy a riboszómális RNS gén szerkezetét alaposabban tanulmányozhassuk, a gént tisztítanunk kellett. Ezt a genetic engineering metodika nyújtotta lehetőséggel, a gén klónozásával végeztük el.

A kiindulási anyag először a már említett  $\lambda$ rif transzdukáló fág volt. Már említettem, hogy az rRNS gén teljes egészében rajta van egy Bam fragmenten. A  $\lambda$ rif DNS-t Bam-mal emésztettük és a fragmenteket ligázzal hozzákötöttük egy ugyancsak Bam-mal vágott pBR313

vektorplazmidhoz /11/. A ligált DNS-t transzformációval coli sejtekbe juttattuk. A transzformánsokat a vektoron lévő  $Ap^R$  gén révén antibiotikumrezisztenciájuk alapján szelektáltuk. A transzformánsok közül azokat a klónokat, amelyek a riboszómális RNS gént viszik, kolóniahibridizációval /12/ kerestük ki. Ehhez a módszerhez a telepeket nitrocellulóz filteren növesztjük, majd a sejteket luggal feloldjuk olyan körülmények között, hogy a telepekből kioldódott DNS a filterhez kötődjön. Ezután  $^{32}P$ -jelzett riboszómális RNS-t hibridizálunk a filterhez. Az a telep, ami a próbát megköttötte, ezután autoradiográfiásan megtalálható és a klón egy replikalemezeiről visszaizolálható. Restriktív enzimes emésztéssel, hibridizálással és elektronmikroszkópos "R-loop technikával" bizonyítottuk, hogy az ilyen módon azonosított klónban lévő plazmid valóban tartalmazza az rRNS gént /13/.

A klónból a riboszómális RNS-t kódoló DNS nagy tisztaságban és tetszőleges mennyiségben előállítható, a továbbiakban csoportunkban ezt a plazmidot használták az rrnB gén promotorszekvenciájának megállapításához /14/.

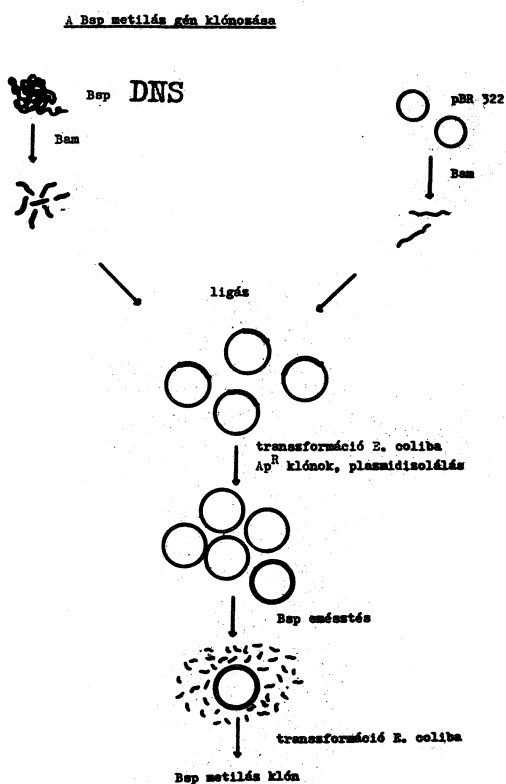
A transzdukáló fágból való klónozás után kísérletet tettünk a 7 génnek a kromoszómából való klónozására. Kb. 2000 rekombináns klónt átvizsgálva 7 olyat találtunk, ami rRNS gént vitt, egy /pBK17/ azt a gént, ami a  $\lambda$ rifd18-on is van /rrnB/, hat egyforma klón pedig egy másik gént /rrnD/. Néhány enzimmel restriktív térképet készítettünk a klónozott génekről, ennek alapján teljesen megegyeznek a kromoszómán lévő példányokkal. A pBK17-ben lévő plazmid nagyon labilis, spontán szegregál. A klónozott rRNS gének labilitása magyarázhatja, hogy a másik 5 gént eddig nem sikerült klónoznunk.

A klónozási kísérletek kulcskérdése mindig az, hogy a sok transzformáns közül hogyan lehet megtalálni azt, amelyik a kérdéses gént viszi. Egy lehetőséget, a hibridizálást, az előbbi példa illusztrált. Egy másik, elég gyakran kiaknázott lehetőség a funkcióra való szelektálás. Ez, ha coli-ban coli géneket klónoznak, általában minden további nélkül megy. Más baktériumok génjei közül már nem mind fejeződik ki coli-ban, magasabbrendűek génjeiről nem is beszélve.

A génműködésre való szelektálást alkalmaztuk a *B. sphaericus* Bsp metiláz génjének klónozására. Ahogy már említettem, viszonylag kevés ismeretünk van a restriktációs endonukleázokról és modifikációs metilázokról, mint enzimekről, és ez fokozottan érvényes az enzimek génjeire. Eddig egyetlen kromoszómálisan kódolt II. típusú restriktációs enzim és modifikációs metiláz génjének klónozását közölték /15/.

A Bsp metiláz gén klónozását a következőképpen végeztük /16/.

/4. ábra/



4. ábra. A Bsp metiláz gén klónozásának menete

*B. sphaericus* DNS-t Bam-mal fragmentáltunk, a fragmenteket Bam-mal emésztett pBR322 plazmidban /17/ ligáltuk, majd a plazmidokat coli sejtekbe juttattuk. A transzformánsokat most nem izoláltan, hanem együtt, folyadék kultúrában növesztettük és plazmidot preparáltunk belőlük. A kísérlet tervezésénél feltételeztük, hogy

a Bsp metiláz gén kifejeződik az új gazdában és a coli sejtben lévő DNS-t, így a plazmid DNS-t is Bsp-specifikusan metilálja, azaz Bsp emésztésre rezisztenssé teszi.

A transzformánsokból származó plazmidpreparátumot Bsp-vel megemésztettük és az emésztménnyel újabb transzformációt végeztünk. Tudni kell, hogy csak a kör alakú, emésztetlen plazmid transzformál.

Az így kapott transzformánsokból preparált plazmidok rezisztensek voltak Bsp-re, bár magán a vektoron 22 Bsp hely van. Valamennyi plazmid egy 9000 bázispár nagyságú fragmentet tartalmazott a pBR322 Bam helyébe építve. Ennek a B. sphaericus kromoszómából származó DNS darabnak egy 2500 bázispár nagyságú EcoRI szubfragmentjét reklónozva is Bsp rezisztens plazmidot kaptunk, tehát a gén ezen a 2500 bp nagyságú fragmenten van.

A Bsp metiláz működéséhez modifikálatlan DNS-en kívül csak metildonort, S-adenozil-metionint igényel. Összehasonlítottuk a Bsp metiláz aktivitását B. sphaericus és a Bsp metiláz gént vivő coli nyers kivonatában. Az enzimaktivitás mérést két szubsztráttal, modifikálatlan DNS-sel és B. sphaericusból izolált modifikált DNS-sel végeztük. A két érték különbségét tekintettük a Bsp specifikus aktivitásnak. Az enzim fehérjére vonatkoztatott specifikus aktivitását a klónban háromszor nagyobbnak találtuk, mint B. sphaericusban.

A klónban lévő metiláz molsúlya gélfiltráció alapján megegyezik az eredeti Bsp metilázéval.

A Bsp metiláz gén klónozása egy újabb példát szolgáltat gram pozitív baktériumok génjeinek kifejeződésére gram negatív gazdában és egy általános érvényű klónozási sémát jelent más modifikációs metiláz gének klónozásához, feltéve, ha azok kifejeződnek coliban.

A metilázklónt, amelynek DNS-e védett a Bsp endonukleázzal szemben, a továbbiakban klónozó gazdaként akarjuk használni az endonukleázgén klónozásához.

#### A fejlődés várható iránya

A klónozott géneket mindenki igyekszik minél előbb megszek-



venciázni, azt várva, hogy a szekvencia alapján meg lehet érteni a gén működését. Ez - akárcsak a fehérjeszekvenciáknál - általában nincs így. Sokat segít a genetika, az, ha ismert fenotípusú mutánsok szekvenciáját hasonlítjuk össze a vadtypussal. Erre azonban csak bizonyos bakteriális géneknél nyílik lehetőség. Azonnal nehézség adódik magasabbrendű élőlényeknél, ahol a mutánsok előállítása a diploiditás és a rendszer komplexitása miatt nehéz, de sok bakteriális gén vizsgálatánál is le kell mondanunk erről a segítségről. Erre a legjobb példa éppen a riboszómális RNS-t kódoló gének, amelyeknek - a többszörös előfordulás miatt - gyakorlatilag nincs genetikájuk.

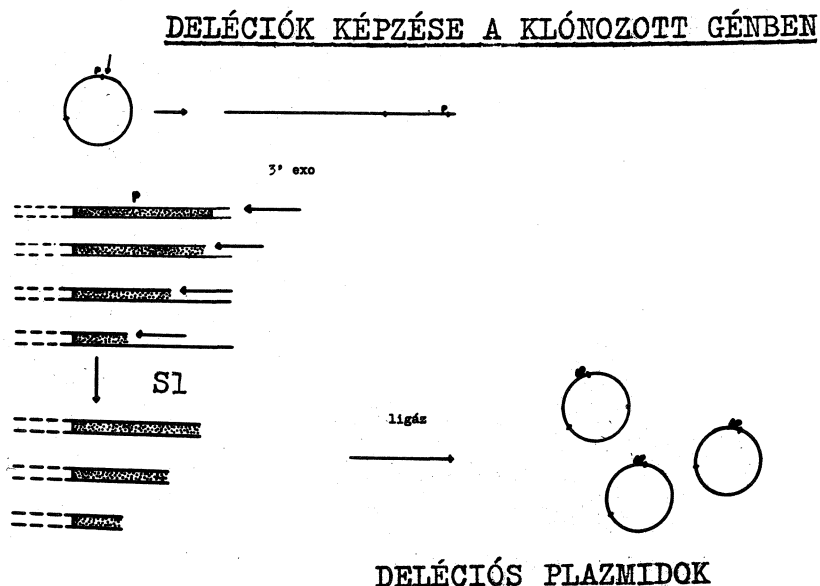
Jelenleg 5 rRNS gén valószínűleg teljes promoterszekvenciája ismert /14,18,19/, de nem tudjuk biztosan megmondani, hogy a szekvencia egyes részleteinek mi a funkcionális jelentősége.

Ekkor nyulunk ahhoz a módszerhez, amit egyik kidolgozója, Charles Weissmann fordított genetikának nevezett /20/. Szemben a klasszikus genetikával, ahol először mutánsokat szelektálnak fenotípus alapján és aztán megnézik, hogy a DNS milyen megváltozása áll a háttérben, itt megfordul a sorrend. A klónozott génben tisztán in vitro módszerekkel mutációkat hozunk létre és azután a gént visszajuttatva eredeti környezetébe, megnézzük, hogy az ismert szerkezeti változás hogyan befolyásolja a működését.

A módszer részleteit egy kísérleti terven szeretném bemutatni, amivel a klónozott riboszómális promoter működését akarjuk vizsgálni. A klónozott rRNS gént kivágjuk a plazmidból, úgy, hogy a promotere bennmaradjon. Ezután a promoter mögé beépítünk egy olyan fragmentet, ami a coli béta-galaktózidáz génjét tartalmazza, de a promotere nélkül. Ezt a rekombináns plazmidot egy lacZ<sup>-</sup> gazdába visszük, ahol - reméljük - a béta-galaktózidáz gén a riboszómális RNS promoteréről fog kifejeződni. Ezzel kapunk egy olyan klónt, ahol egy riboszómális RNS gén működését a többtől elkülönítve, egyszerű enzimmérés alapján tudjuk vizsgálni.

A plazmidot egy alkalmas restriktív enzimmel a promoter közelében elhasítjuk, majd 3' vagy 5'-exonukleázzal a végekről leemésztünk úgy, hogy a deléciók vége belenyuljon a feltételezett

promoterrégióba. Ezután S1 nukleázzal az egyszáлу végeket leemésztjük. Így egy olyan deléció sorozatot kapunk, ami hosszabb-rövidebb darabokat eltávolít a promoterből. /5. ábra/



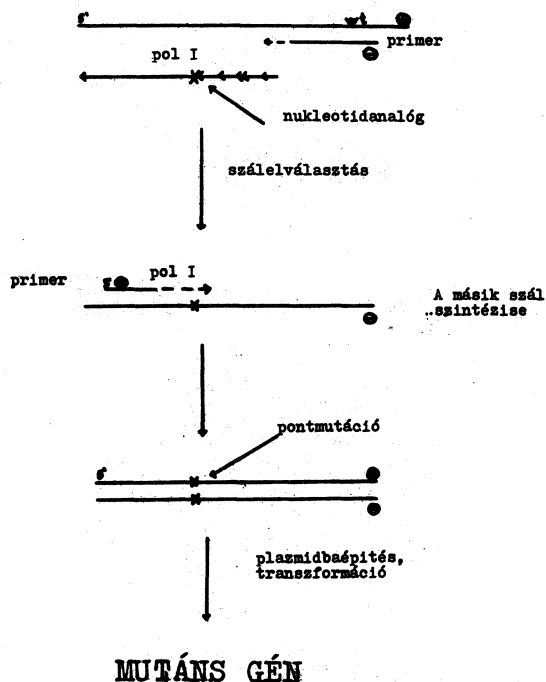
5. ábra

A deléció s plazmidokat ligázzal körré zárjuk, baktériumba transzformáljuk és megnézzük, hogy a deléciók hogyan befolyásolják a promoter működését.

Pontmutációkat is létre lehet hozni tisztán in vitro módszerekkel, méghozzá meghatározott helyen. /6. ábra/ A vad típusu DNS fragment egyik szálához alkalmas restrikciós fragmentből vett komplementer szálát hibridizálunk. Erről a szálvégről indulva DNS polimeráz I-gyel megszintetizáljuk a kiegészítő szálát. Ha a szintézist úgy végezzük, hogy a négy trifoszfát közül csak egyet, kettőt, vagy hármát adunk, a lánc épülése csak addig a pontig halad, ahol a hiányzó trifoszfátnak kellene beépülnie. Természetesen a módszer feltételezi a szekvencia ismeretét ezen a szakaszon. A szintézist így közben tartva lépésenként el lehet jutni addig a pontig, ahol mutagenizálni, tehát egy nukleotidot egy másikra cserélni akarunk. Itt egy nukleotidanalógot adunk, ami beépül, majd a 4 tri-

foszfáttal befejezzük a szintézist. Száleválasztás után megszintetizáljuk a kiegészítő szálat, majd az így kapott mutáns fragmentet beültetjük az eredeti helyére és a plazmidot baktériumba transzformáljuk.

### In vitro irányított mutagenézis



6. ábra

A most felvázolt módszereket egyes laboratóriumokban már alkalmazzák klónozott eukarióta gének vizsgálatára. Itt kell megemlítenünk az eukarióta vektorokat /SV40, timidinkináz gén; 21,22/, melyek kifejlesztése az utóbbi 2 év egyik legnagyobb metodikai haladása.

Ezzel bezárult a kör. A rekombináns DNS technológia kevesebb, mint 10 év alatt nemcsak azt tette lehetővé, hogy egyes eukarióta géneket lehessen izolálni, hanem azt is, hogy ezeket a géneket tetszőlegesen megváltoztatva a sejtbe visszajuttassuk, beavatkozá-sunk eredményét megláthassuk és ezzel a génműködés megértéséhez minden eddiginél közelebb kerüljünk.

I r o d a l o m :

1. Smith, H.O. and Wilcox, K.W., J. Mol. Biol., 51 /1970/ 379-391
2. Roberts, R.J., Gene, 4 /1978/ 183-193
3. Kiss, A., Sain, B., Csordás-Tóth, É. and Venetianer, P., Gene, 1 /1977/ 323-329
4. Koncz, C., Kiss, A. and Venetianer, P., Eur. J. Biochem. 89 /1978/ 523-529
5. Arber, W., Progr. in Nucl. Acid Res. and Mol. Biol., 14 /1974/ 1-37
6. Southern, E.M., J. Mol. Biol., 98 /1975/ 503-517
7. Boros, I. and Sain, B., Mol. Biol. Reports, 3 /1977/ 451-457
8. Kiss, A., Sain, B. and Venetianer, P., FEBS Letters, 79 /1977/
9. Boros, I., Kiss, A. and Venetianer, P., Nucl. Acids Res. 6 /1979/
10. Jorgensen, P., Molec. gen. Genet., 146 /1976/ 303-307
11. Bolivar, F., Rodriguez, R.L., Betlach, M.C. and Boyer, H.W., Gene, 2 /1977/ 75-93
12. Grunstein, M. and Hogness, D.S., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72 /1975/ 3961-3965
13. Kiss, A., Sain, B., Kiss, I., Boros, I., Udvardy, A. and Venetianer, P., Gene, 4 /1978/ 137-152
14. Csordás-Tóth, É., Boros, I. and Venetianer, P., Nucl. Acids Res., közlés alatt
15. Mann, M.B., Rao, R.N. and Smith, H.O., Gene, 3 /1978/ 97-112
16. Szomolányi, É., Kiss, A. and Venetianer, P. Gene, közlés alatt
17. Bolivar, F., Rodriguez, R.L., Greene, P.J., Betlach, M.C., Heynecker, H.L., Boyer, H.W., Cross, J.H. and Falkow, S., Gene, 2 /1977/ 95-113
18. Young, R.A. and Steitz, J.A., Cell, 17 /1979/ 225-234
19. de Boer, H.A., Gilbert, S.F. and Nomura, M., Cell 17 /1979/ 201-209
20. Weissmann, C., Trends in Biochemical Sciences /1978/ N109-N111
21. Hamer, D.H. and Leder, P., Nature, 281 /1979/ 35-40
22. Wigler, M., Pellicer, A., Silverstein, S. and Axel, R., Cell, 14 /1978/ 725-731

# tanulmányút

## Oxfordi beszámoló

Azt hiszem mindenkit, aki valaha is járt Oxfordban, megfogott a város és a várossal egygé forrt egyetem sajátos légköre. A látogató is megsejti, hogy valami más itt, mint a huszadik század egyéb európai vagy amerikai szellemi központjában. Az itteni kiegyensúlyozott, nyugalmas élettel egybeszőtt, intenzív alkotó tevékenység, a csend mögött meghúzódó pezsgő intellektuális élet ízét azonban azt hiszem csak az érzi meg, akinek megadatik, hogy huzamosabb időn át részese legyen ennek a világnak. Szerencsém volt az 1977/78-as akadémiai évet az Oxfordi Egyetem Biokémiai Intézetében tölteni. Kiutazásomat a Kulturális Kapcsolatok Intézete szervezte és a "Wellcome Trust" biztosította anyagi fedezetét. Ennek az egy évnél szakmai és személyes élményeiről szól ez a beszámoló. A kiutazásomat megelőző baráti és munkakapcsolat, valamint az egyetem által felajánlott vendégprofesszori státusz nagyon megkönnyítette beilleszkedésemet az oxfordi társadalmi életbe és a munkába, mely két dolog itt szorosan összefonódik. Talán érdemes néhány szót ejteni az oxfordi egyetem szervezetéről és életéről. Ez az egyetem valóban "E g y e t e m" a szó klasszikus értelmében, egyesítve a tudományok minden ágát. Oxford, - legalább is, ami az egyetemi és történelmi városrészt illeti, - kisváros, de olyan kisváros, ahol koncentráltan található a nagyvilág szinte minden szellemi értékének valamilyen képviselője, ahol folyton csend van és nyugalom, mégis mindig történik valami.

Az egyetem a tanszékekre és a kollégiumokra épül - ez a fajta szerkezet Angliában is csak Oxford és Cambridge sajátosága. A tanszékek az egyes szakterületeken belül fogják össze a tudományos és oktatói tevékenységet. A kollégiumok a hallgatók nevelésének, valamint az interdiszciplináris és társadalmi kapcsolatoknak fórumai. Ezt a kétféle, formailag független hálózatot az oktatók és hallgatók személye foglalja egységbe. Minden hallgató /akkor is, ha nem lakik kollégiumban/ és gyakorlatilag minden oktató valamelyik "college"-hoz tartozik.

Az előadások az egyetemen folynak, itt vannak a nagyobb szakkönyvtárak és a központi könyvtár is. Az egyetemnek saját sportpályái, tornacsarnoka van. De minden kollégium rendelkezik külön könyvtár-

ral és sportteleppel. A hallgatók egyéni vagy páronkénti foglalkozásait /tutorial/ a kollégiumok kijelölt tanárai vezetik. Egy-egy kollégiumban egy tantárgyat általában 2-3 oktató képvisel, minden oktató 1-3 diák tanulmányaira felügyel a saját tárgyában. A diákokat a kollégiumi tanárok választják ki a hozzájuk jelentkezők közül és tanulmányaik során végigkísérik őket az illető tárgyban, de eligazítást adnak az élet egyéb kérdéseiben is. A foglalkozások az előadásokhoz kapcsolódó beszélgetéseket, irodalmazáshoz szükséges eligazítást, házi feladatok, dolgozatok kiadását és ellenőrzését jelentik. A foglalkozások légkörét közös ebéd, vacsora, teázás, esetleg tenisz vagy football oldja, de a követelmények szigorúak és minden oktató saját presztizsével játszik, ha engedékeny az alkalmatlanokkal.

A kollégiumok másik fontos szerepe a különböző területeken dolgozó, eltérő érdeklődési körű és műveltségű emberek rendszeres kapcsolattartásának és véleménycseréjének biztosítása. A kollégiumi ebédek, de különösen a vacsorák és a vacsora utáni desszert elfogyasztása ad ezeknek a beszélgetéseknek és eszmecsereknél rendszeres és kellemes keretet. Engem az a megtiszteltetés ért, hogy a XIII. században alapított "Exeter college" tagjává választott, s így a közös étkezéseknek is rendszeres résztvevője lehettem. A régi alapítású kollégiumok többsége gondosan ügyel a formai hagyományok fenntartására, s a sokszor ötszáz éves falak között a butorok, a teríték és a szertartások is az elmúlt századok hangulatát idézik. A formásokat sokan anakronisztikusnak érzik és morognak ellene, de ebben a környezetben nekem inkább megőrzésre méltó, muzeális értékek tünnek.

Az előadások, gyakorlatok és a kutatómunka - legalább is, ami a természettudományokat illeti - a tanszékeken folyik. A tanszék élén a professzor áll, őt követik a hierarchiában az előadók /lecturer/. De vegyük példaként a Biokémiai Tanszéket. Élén Sir Peters és Sir Hans Krebs utódként ma Rodney R. Porter áll, aki az immunoglobulinok kémiai szerkezetének felderítése terén végzett munkájáért kapta az orvosi Nobel díjat 1972-ben. A Biokémiai Tanszék új torony-épülete, melynek legfelső emeletéről a könyvtár ablakaiból csodálatos kilátás nyílik a gótikus Oxfordra, az egyetemi laboratóriumok mellett helyet ad a "Medical Research Council" Immunokémiai Egységének. A tanszéket és a kutatócsoportot Porter személye fogja egybe.

A tanszéken 10 lecturer és így tíz független laboratórium van. Szinte mindegyik más irányzatot és tudományterületet képvisel, de állandó a kapcsolat, mindennaposak a közös teázások és beszélgetések. Az egyes laboratóriumok metodikai tárháza is kiegészíti egymást, bár a fontosabb műszerek a "Medical Research Council" által finanszírozott "Oxford Enzyme Group" tulajdonát képezik. Ez az interdiszciplináris alapon, a különböző tanszékek vezető kutatóiból szervezett és eléggé bőkezűen finanszírozott csoport rendszeres keddi esti szemináriumokon jön össze, ahol egy-egy téma részletes ismertetése mellett mód nyílik a legújabb eredmények, frissen szerzett információk kicserélésére. Találkozik itt a krisztallográfus az NMR szakemberrel, az immunológus az enzimológussal vagy a nukleinsavkutatóval, a szerves kémikus az orvossal, fizikussal, stb. A gazdag műszerparkot közösen üzemeltetik és használják, összehangolják a beszerzéseket, könyvirást, konferencia szervezést. Ez a laza, az egész természettudományi kart átszövő szervezet, igen eredményesen működik s elismerésnek számít, ha valakit tagjai sorába fogad.

A Biokémiai Tanszéken a csoportok létszáma, tudományos súlya nem egyforma. A hely mindenütt kevés és az eredményes laboratóriumokba könnyen áramlanak az ösztöndíjak és alapítványok /grant/, sok a vendég. Az állandó egyetemi státusz ritka, még technikusra sem mindenhol futja, de ott vannak a doktoranduszok, akik éjjel-nappal dolgoznak és a "piszkos munkát" is zokszó nélkül elvégzik. A doktoranduszokat a kutatómunkán kívül intenzíven bevonják az alsóévesek oktatásába, gyakorlatvezetésbe, és az oktatás egyéni foglalkozásainak vezetésébe /tutorial/. Ez terhet vesz le az előadók válláról és önálló buvárkodásra szoktatja a doktoranduszokat, ami egyébként is az oxfordi képzés egyik fő sajátossága és erénye.

Magam az antigén-antitest-komplement kölcsönhatások molekuláris szerkezeti alapjainak kutatásában lévén érdekelt, elsősorban az intézetben folyó immunológiai és fehérje fizikai-kémiai munkákkal ismerkedtem meg közelebbről. Az oxfordi egyetem biokémiai tanszéke tematikai szempontból, - azt hiszem, - a komplement kutatásban és az immunoglobulinok kötőhelyeinek feltérképezésében, metodikai szempontból pedig a magmáneses rezonancia és a riporter csoportok fehérje-kémiai alkalmazása területén vivott ki vezető helyet magá-

nak a világban. Mielőtt a tanszéken folyó munkáról és az érdeke-  
sebb eredményekről beszélnek, talán essen pár szó a tanszék és  
az "Oxford Enzyme Group" metodikai lehetőségeiről. Van 129 MHz  
foszfor NMR, 270 MHz proton NMR, ott-tartózkodásom alatt készült  
el a saját építésű 460 MHz proton NMR készülék, rendelkezésre áll  
fotoelektromos kiértékelővel felszerelt Beckman analitikai ultra-  
centrifuga, nanosecundum spektrofluoriméter, fluoreszcencia élet-  
időmérő, fluoreszcencia spektrofotométer, CD spektrofotométer,  
ESR készülék, gázkromatográf, stopped flow berendezés, röntgen  
diffrakciós készülékek /Biofizika/ és jók a számítógépes lehetősé-  
gek.

Ami a tudományos eredményeket illeti, az intézet ma a komplement-  
rendszer kutatásának központja és az itt végzett munka alapvetően  
hozzájárult a komplement aktiválás klasszikus és alternatív utjá-  
nak felderítéséhez. Ezek az eredmények R.R. Porter és K. B. M.Reid  
nevéhez fűződnek. Nem kell az immunoglobulinok második konstans  
doménjének komplement-kötő aktivitását demonstráló Fab<sub>2</sub> fragmen-  
tum előállításának jelentőségét sem hangsúlyozni. Paramágneses  
próbák, spin-jelek és nagy-felbontású NMR technika alkalmazásával,  
antitestek haptén kötőhelyének pontos, a röntgenkristallográfiás  
vizsgálatokat kiegészítő feltérképezését végezték el Raymond Dwek  
csoportjában. Speciális NMR pulzustechnikákat dolgoztak ki I.D.  
Campbell laboratóriumában, fehérjék aromás oldalláncai intramole-  
kuláris mobilitásának kimutatására. E technikák segítségével mód  
nyílt kisebb molekulású fehérjék /pl. lizozim, szénsav anhidra-  
táz/ oldatbeli és kristályos állapotbeli szerkezetének összeveté-  
sére, a különbségek pontos számbavételére.

Az intézet tematikájában megtalálható még az enzim kinetika /Keith  
Dalziel/, a kromatin kutatás / Ian Walker/, az enzim szerkezet  
kutatás és az in vivo biokémia /Radda György/, az izomban történő  
anaerób energiafelszabadítás enzimológiájának - glikolízis, cit-  
rát kör - kutatása /E. A. Newsholme/. Margery Ord és Lloyd A.  
Stocken a nukleoszómákon való transzkripció iniciálásának mecha-  
nizmusával foglalkozik, J. S. Knowland, P. C. Newell és D. S.  
Parsons érdeklődési területe a differenciálódás és az embrionális  
szövetek anyagcseréje. Dr. Acheson pedig az akridin-származékok  
szintézisével és terápiás felhasználásának lehetőségeivel foglal-



kozik. A munkák színvonala legalább olyan széles skálán mozog, mint amilyen a tematikai választék.

Ott-tartózkodásom célja az volt, hogy paramágneses és fluoereszcens próbák, nagyfelbontású proton NMR és fluoereszcenciás mérések segítségével tovább jussak itthon elkezdett munkámban, mely az antigén és komplementkötő immunoglobulin domének közötti információátadás mechanizmusának felderítésére irányult. Ennek során homogén nyul IgG-vel, térkitöltő poliszacharid antigénekkkel és a komplementrendszer első komponensének, a Clq-nak kölcsönhatásaival foglalkoztam. Az első feladat a Clq kötőhelynek a CH<sub>2</sub> doménenbelüli behatárolása és feltérképezése volt. Ezt a doménhez kapcsolódó cukor-lánc spin-jelölésével, a CH<sub>3</sub> doménhez meghatározott helyen köthető Gd III paramágneses próba segítségével, nem-kovalens fluoereszcens inhibitor alkalmazásával úgy értük el, hogy kombináltuk a modell-építést, a nagyfelbontású proton NMR és a kémiai módosítások által szolgáltatott információkat a paramágneses és fluoereszcens próbákkal kapott távolság-adatokkal. A nagyfelbontású NMR vizsgálatokhoz a molekulaméret csökkentésére volt szükség, e célból megkíséreltük a nyul IgG intakt és biológiailag aktív CH<sub>2</sub> doménjének izolálását. Ez a próbálkozásunk sikerre vezetett és ez jelentősen megkönnyíti a további munkát.

Kombinálva a proton NMR, az izotóp-kicserélődés és a mikrokalorimetria adta lehetőségeket, összehasonlítottuk a nyul IgG antigénfelismerő és komplementkötő, a térszerkezet vázában igen hasonló doménjeinek szerkezeti stabilitását és motilitását. Arra az eredményre jutottunk, hogy a hasonló felépítésű globuláris domének dinamikus sajátságaikban jelentősen különböznek. Az elsődleges, felismerő kötőhelyet tartalmazó domén merev, a másodlagos, komplementkötőhelyet tartalmazó domén meglehetősen motilis szerkezettel rendelkezik. E munkákat Raymond Dwek laboratóriumában végeztük, szoros kapcsolatban R. R. Porter, R. J. P. Williams /szervetlen kémia/, D.C. Phillips /biofizika/ profeszorokkal s azok munkatársaival.

A közös munka hazatérésem után is folytatódik és a "Wellcome Trust" is érdemesnek találta a témát további finansiális támogatásra. A közös munka keretében az oxfordi intézetből már ketten jártak az MTA SzBK Enzimológiai Intézetében kéthónapos tanulmányuton. Számunk-

ra ez a munkakapcsolat igen hasznosnak bizonyul minden téren: információt, vegyszereket és itthon hozzáférhetetlen metodikai lehetőségeket kapunk munkánkhoz.

A jó felszerelés és a különleges kvalitású emberek nagy koncentrációja mellett még egy nagy előnye van az oxfordi életnek, az, hogy nem kell elutazni. Mindenki, aki érdekes lehet "házhoz jön". Ott-tartózkodásom alatt Ch. Tanford vendégprofesszoroskodott és tartott előadásokat az intézetben. H.K. Sachmann töltött ott két hónapot, Serge Timasheff, David Givol, Henry Metzger, - és még sorolhatnám hosszasan a neveket, - tartottak szemináriumot. Ez időben avatták az egyetem disz doktorává Szentágothai Jánost és Herbert von Karajant. Hazai látogatókban sem volt hiány, csak intézetünkben töltöttek ott négyen hosszabb-rövidebb időt. És mindenki, aki jön, hoz valamiféle friss információt: ki mit csinál, mire jutott, mit tervez. - A szemináriumokban is bőven lehet válogatni. A helyi biokémiai társaság ifjusági tagozata hetente hív meg nevesebb előadókat más egyetemekről, ipari kutatóintézetekből. A keddi déli szeminárium elsősorban intézeti munkabeszámolókból áll össze. Rendszeresekek még a D. C. Phillips által szervezett molekuláris biológiai szemináriumok, melyek egy-egy területről adnak átfogó képet. Ezekhez járulnak még az alkalmi látogatók által /heti átlagban két alkalommal/ tartott előadások és a már említett "Oxford Enzyme Group" szemináriumok, bár ezt csak a meghívottak látogathatják. Választékban tehát nincs hiány, mindenki mindig megtalálhatja, ami érdekli. Érdekes, hogy a sok szeminárium nem fullad részvétlenségbe. Mindig jelen van 10-60 ember, de csak azok, akiket a téma valóban érdekel és a vita sokszor 1-2 órán át is elhúzódik, sokszor szinte a gorombaság határát surolja, természetesen angol mérték szerint. A vendégeket kihasználják, kifaggatják, igyekeznek megtanulni tőlük mindent, amit lehet, akkor is ha nem "sztárokról" van szó.

Egy másik különlegesség, amit eleinte nem értettem, hogy éppen a legaktívabb és legtájékozottabb emberek látszólag nem olvasnak, a könyvtárban zömmel csak diákokat és doktori dolgozaton kinlódó ifjakat lát az ember. A dolog megfejtése az, hogy ami nyomtatásban megjelenik, az már nem érdekes. A kéziratok, preprintek és a személyes vagy telefonbeszélgetések képezik a legfőbb információforrást. Mindenki szerkesztő valahol, mindenki benne van valamelyik szervezet

biráló bizottságában, ahol az ösztöndijokról és egyéb pénzekről döntenek, így saját területén tökéletesen tudja ki mit tervez és mire jutott. Így a kísérletek programja is naponta hozzá igazítható az aktuális helyzethez. Pl. Huber aznap, amikor megkapta az emberi IgC Fc fragmentumának atomi koordinátáit, megtelelezte Münchenből és másnap már az átépített modell alapján interpretálhattuk az NMR kísérleteket. Hasonlóan, amikor a komplementkötés kompetitív inhibitorára akadtunk, már néhány nap múlva megindult az Fc fragmentum inhibitor komplex kristályosítása D.C. Phillips laboratóriumában. Porter professzor nem mulasztotta el, hogy a liftben, vagy a lépcsőházban naponta meg ne kérdezzen mire jutotunk előző nap, s gondolom mással is ezt tette. Ha eszébe jutott valami, vagy számomra érdekes dolgot hallott, lesétált és két mondatban elmondta. Ugyanezt tapasztaltam legtöbb kollégám részéről, meglepett mennyire tudják mivel foglalkozom és mi az, ami esetleg érdekelhet.

Visszagondolva, nagyon kellemes és hasznos esztendő-töltöttem ebben az utánozhatatlan környezetben. Azóta sokat gondolkoztam rajta, miért van az, hogy Oxfordban az emberek látszólag kisebb erőfeszítésekkel sokkal többre jutnak, mint legtöbb más helyen. Azt hiszem a dolog nyitja a hagyományokon, a környezeten kívül abban a sport-szerű játékosságban rejlik, ahogy ott legtöbben üzik a tudományt.

Závodszy Péter

# OKTATÁS

## BIOKÉMIAI OKTATÁS SZERTE A VILÁGON

Prof. P. N. CAMPBELL torontói előadásának / XI. Biokémiai Világkongresszus 1979 / a BIOCHEMICAL EDUCATION 1980/1 számában megjelent változata - GARZÓ Tamás fordításában.

Abban a szerencsés helyzetben vagyok, hogy módom volt tanulmányozni : hogyan tanítanak biokémiát számos országban. Mégis azt hiszem, nem lenne hasznos, ha most elmondanám benyomásaimat arról, hogy milyen a biokémia helyzete az egyes országokban - habár lassanként az a - meglehetősen téves - meggyőződés alakul ki bennem, hogy egy-egy országban akár 48 óra alatt is át tudom tekinteni az általános helyzetet. Azt hiszem, ennél hasznosabb lesz, a tanítás általános módszereit és az irányzatokat. Így minden ország biokémikusai elhelyezhetik magukat az általános képhez vagy legalábbis abban a képhez, amit én vázolok fel.

### Biokémia és a közvélemény

Bár elsősorban a felsőoktatással fogok foglalkozni, bevezetőben mondanék néhány szót arról is, milyen kép él a közvéleményben a biokémiáról, továbbá arról is, hogyan tanítják a biokémiát a középiskolákban. A biokémiát ma már általában a legalapvetőbb természettudományok közé sorolják, s ennek arányában ruháznak be pénzt és irányítanak tehetséges embereket erre a területre, legalábbis a fejlett országokban. Éppen ezért fontos, hogy mi biokémikusok megismertessük tárgyunkkal a közvéleményt. Ez természetesen azt jelenti, készen kell állnunk arra, hogy részt vegyünk rádió- és tévéadásokban, és ha úgy hozza az alkalom, cikkeket írjunk újságokba. Azt hiszem, efelől nincs is vita köztünk s mi tudósok az utóbbi időben sokkal inkább bőbeszédűek vagyunk, mint azelőtt. Sokunkat zavar, hogy az a kép, ami a színpadokon alakult ki a tudósokról, messze van a realitástól; ezért arra kell törekedjünk, ne adjunk tápot a hamis képnek. Ebből a szempontból nagyon fontos, hogy gondosan válogassuk meg a nyilvánosság előtt szavainkat és hü képet adjunk tudományágunkról, anélkül, hogy túlhangsúlyoznánk akár elért eredményeinket, akár a várható veszélyeket.

Mondanék néhány szót arról, milyen benyomást keltett a génsebészetről folytatott vita, amelyet sok országban igen bőven tár-

gyalt a sajtó. Korai lenne pozitívan értékelni a vita hatását a közvéleményre. Igaz, minél több embernek kellene tisztában lennie azzal, hogy mire vagyunk képesek ezen a területen. Mégis hangot adnék annak a különvéleményemnek, hogy engem némileg meglepett a tudósok naivitása ez ügyben. Hiuságunknak - úgy látszik - nagyon jól esik, ha a közvélemény tudomást vesz létezésünkről. Csakhogy vannak köztünk, akik azt hiszik, hatalmunkban áll bármikor visszahuzódni a rivaldafényből, ha éppen úgy látjuk helyesnek. Én azt hiszem, hogy amikor felhívtuk a figyelmet a rekombináns DNS kutatásokban rejlő feltételezett -lehetesleges veszélyekre, akkor - akarva-akaratlan - a legveszélyesebb vadállatot, a közfigyelmet kezdtük ingerelni. Most aztán nem mondhatjuk, hogy van szerencsénk bejelenteni : a veszélyeket eltuloztuk, a szükséges óvintézkedéseket megtettük, a közvélemény sziveskedjék nagyérdemű figyelmét máshová fordítani. Ilyen szöveggel még a Nobel-díjas tudósok sem menthetik az irhájukat. Legalábbis én így láttam az angliai COGENE konferencia /1979 április/ eredményeit. / Lásd : BIOKÉMIA 1979.

számában. Szerk. / A tanulság az, hogy aki magára akarja vonni a közfigyelmet, jobb, ha meggondolja : nagyon erős vadállattal kezd ki. A bestiát nehéz felingerelni, de ha ez megtörtént, ugyanolyan nehéz megnyugtani és csendben otthagyni.

### Biokémia a középiskolákban

Ami az iskolát illeti, sohasem hittem, hogy a biokémia oktatását abban különösen szorgalmazni kellene. Egyrészt úgy vélem, hogy a biokémia elsajátításához jó kémiai alapok szükségesek és nehéz elemi kémiát és biokémiát párhuzamosan oktatni. Másrészt egyet kell értenünk azzal, hogy a biokémia a biológia megismerésének egyik legfontosabb és igen izgalmas megközelítési módja; így mindenfajta biológia oktatásban feltétlenül szerepelnie kell némi biokémiának. Ezt a nézetet vallják általában a tanárok is és tekintve, hogy a középiskolai diákok jelentős része nem folytatja felsőiskolákon tanulmányait, józan dolog, ha nem ellenezzük, hogy a biokémiát valamilyen módon tanítsák a középiskolákban. A fontos csak az, hogy jól tanítsák és nekem az a benyomásom, hogy nagyon jó tanárra van ahhoz szükség, hogy áthidalja bármely tantárgy megismerésének kezdeti nehézségeit egy vegyes érdeklődésű és képességű osztályban. Különösen így van ez akkor, ha mint a biokémia esetében

is, a tárgy rohamosan fejlődik, változik és ráadásul megértéséhez kémiai tudásra van szükség. Nagyon fontos, hogy a biokémiát jól tanítsák, mert különben a diákok el fogják átkozni, mint nehéz és unalmas tárgyat és tanításával nem fogunk tehetséges diákokat erre a szakra ösztönözni az egyetemen. Ezért nagyon remélem, hogy a biokémiai tanszékek minden lehetőséget felhasználnak arra, hogy részt vegyenek a középiskolai tanárok továbbképzésében.

### Egyetemek és műegyetemek

Most áttérek a felsőoktatásra. Az egyetemeken és a műegyetemeken a biokémia főtárgy lett. Általánosan elfogadottá vált az a nézet, hogy tudására számos szakmában, így orvostanhallgatók, fogorvostanhallgatók, állatorvos- és agrárégyetemi hallgatók, továbbá a biológusok képzésében szükség van. Hogy szükség van-e rá az angolszász típusú egyetemi oktatás előkészítő szakaszában /undergraduate phase/, vitatott, e tekintetben igen különbözőek a vélemények. Az Egyesült Királyságban ilyen kollégiumok mindenestre nagyon gyorsan alakultak ki, mutatva, hogy milyen nagy hangsúlyt és támogatást kaptak az erre irányuló próbálkozások.

Ami a biokémia egyetemi és műegyetemi oktatásának szervezetét illeti, két végletet ismerhetünk fel. Japánban például az az álláspont, hogy a biokémia voltaképpen technológia - módszerek, eljárások, stb. összesége - ,nem pedig valódi akadémiai alaptárgy, mint a kémia vagy a fizika. Ennek megfelelően minden kar igényel biokémikusokat, minden karon működnek biokémikus professzorok. Ezt mutatja az 1. ábra

#### Biokémia a felsőoktatásban -japán minta

Olyan rendszer, melyben az oktatás az egyes karokon belül folyik

---

TTK	Agrár-kar	Általános orvosi kar	Fogorvosi kar	Gyógyszerészeti kar	Ápolónőképző					
1	1	3	1	1	1					
	p	r	o	f	e	s	s	z	o	r

---

Japánban 73 egyetemen képeznek orvosokat és ezeken 150 biokémia professzor van. A japán egyetemeken a karok szervezése vertikálisan nagy mértékben differenciált. Ennek eredményeként a nagy egyetemeken sok biokémia professzor van, de azok szétszóródnak az egyes karokon. Láttam olyan esetet, ahol egyetlen kari tanszéken három biokémia professzor volt, de egyik sem volt tulajdonképpen tanszékve-

zető, az oktatási munkát és kutatást egyaránt megosztották egymás között. A másik véglet az Egyesült Királyságban ismerhető fel, ahol minden biokémiai oktatási tevékenységet esetleg egyetlen központi biokémiai tanszék lát el. Ezt szemlélteti a 2.ábra.

Biokémia a felsőoktatásban - angol minta

Olyan rendszer, melyben központi tanszékek -általában több, a tanszékvezetésben egymást váltó professzorral - látják el az oktatást

K a r	T a n t á r g y	H a l l g a t ó k
T T K	Bevezetés a biokémiába	Vegyészek biológusok biokémikusok
	Részletes biokémia	biokémiát és még egy tárgyat felvett hallgatók
	Speciál kollégiumok	
Általános orvosi	2 éves	orvostanhallgatók
Fogorvosi	1 éves biokémia	fogorvostanhallgatók
Állatorvosi	1 éves	állatorvostanhallgatók

A tanszéken rendszerint több professzor működik, akik a tanszékvezetői feladatokat manapság rendszerint egymást felváltva látják el. Még ebben a szervezeti formában is gyakran előfordul, hogy a biokémia jelentős részét más tanszékeken oktatják, hiszen régen elmultak azok az idők, amikor valamelyik öreg professzor kijelentette, ha biokémiát tanítanak az egyetemen, az csak az ő tanszékén történhet. - Mint említettem, számos átmeneti forma is létezik. Így sok országban, pl. a skandináv országokban a biokémia oktatása megoszlik a természettudományi és az orvosi karok között. Általában az is igaz, hogy a medikusok biokémiai képzése még akkor is különleges keretek között szokott folyni, ha azt központi tanszék irányítja.

Nem az én feladatom annak megítélése, melyik szisztémát tartom személy szerint jobbnak, de talán segíti a fejlődést, ha megemlítem, mit tartok az egyes szervezeti formák erősségének és gyengeségének - és hogy ezek ismeretében mire kellene a jövőben törekedni. Szilárdan vallom, hogy az egyetemi oktatásnak a kutató munka légkörében kell folynia, s ez fontosabb, mint az, hogy az intézet minden tagja részt vegyen ténylegesen az oktatásban. Semmi sem élénkítheti és

termékenyítheti az oktató munkát, ha az oktató személyzet nem él szoros kapcsolatban a gyorsan fejlődő tudományág irodalmával. Ezt általában el is ismerik, de -fájdalom- nagyon is sok olyan intézetben jártam, ahol a főnök fennen hangoztatja ugyan e nézetet, de egyáltalán nem jár elől jó példával. Attól tartok, hogy akárcsak a családban a szülőknek, az oktató személyzetnek is elsősorban példamutatással és nem szónoklatokkal kell nevelnie. Álláspontom tehát az, hogy az oktatást nem szabad elválasztani a kutatástól és amikor oktató intézményekkel foglalkozunk, nem szabad elfeledkeznünk a kutatásnak az oktatásra gyakorolt hatásáról. Ebből a szempontból nagyon fontos, hogyan építünk. Új épületek tervezésekor ritkán gondolnak a leendő létesítmények rendeltetésére.

#### A japán szisztéma

Visszatérek a japán szisztémához és nézzük meg, hogyan illeszkedik elképzeléseinkhez. Belátom, vonzó, ha az oktatást az egyes karok sajátos igényeinek rendeljük alá. Így például, ha fogorvostanhallgatókat akarunk biokémiára oktatni, nyilvánvalóan előnyös, ha vannak erre a célra specialistáink a karban. Mindentől eltekintve ezek feltétlenül jobban tudnak a kar követelményeinek eleget tenni -feltéve és remélhetően a kar is tudja, hogy mit akar a specialistákkal elérni. Központi tanszékek esetében ez a probléma nehezebben oldható meg. Ebből a szempontból a japán rendszer valóban vonzó. Ami engem nyugtalanít, az a méretek problémája. Ha a biokémikusokat un.szakértők kis csoportjaira osztjuk szét, mi biztosítja a szükséges mobilitást és a leváltást akkor, ha valaki szemlátomást nem tesz eleget az elvárásoknak? Pl. tegyük fel, van egy biokémikusunk a fogorvosi karban, aki lelkesen és jól dolgozott az első öt évben, de a következő harminc évre nincs egyetlen új ötlete sem. Ha ez az illető központi tanszék munkatársaként dolgoznék, meg lehetne változtatni munkakörülményeit és esetleg újra aktivizálni lehetne őt. Magára hagyva viszont nem valószínű, hogy ez bekövetkezik. A tanszékvezetők legfontosabb feladata az, hogy mindent elkövessenek annak érdekében : valamennyi beosztottjuk hatékonyan vegyen részt a tanszék feladatainak megoldásában. Ez lehetetlen akkor, ha a tanszék egymástól elszigetelt, individuális szakértőkből áll. - Még valami ennél fontosabb és alapvető dolog is aggaszt engem a japán rendszerben, de hangsúlyozni szeretném, nem akarom, hogy a japán kollégák ezt



ellenük irányuló támadásnak vegyük. Arról van szó, elfogadjuk-e azt, hogy a biokémia nem egyéb, mint "technológia", - vagy higyjünk abban, hogy a biokémia valódi alaptudomány? Bárki bármit is gondol erről különböző elméleti megfontolásból, én kitartok a mellett, hogy számos tény bizonyítja: a biokémia alaptudomány. Nem ezt támasztja alá a Nemzetközi Biokémiai Unió létezése, biokémiai folyóirataink, az önálló biokémiai szekció a Proceedings of the National Academy of Science hasábjain, büszkeségeink, a Nobel-díjas tudósok, akik szívesen nevezik magukat biokémikusoknak? Kétségtelen, hogy minden egyetemnek fontos az alsó vagy a felső évfolyamokon a biokémia tanítása, természetesen olyan anyagé, amely jól kapcsolódik az egyes tárgykörökhöz és gyümölcsözően hasznosítható is azokban. A specializálódás iránti igény nagyon gyakran elszigetelt és nem helyénvaló. Emlékszem olyan növénytantárszagos hallgatóimra, akik bevezető biokémiai előadásaim során szememre vetették, hogy miért beszélek a glikogénről, miközben az ottlévő zoológusok ugyanezt érezték a keményítővel kapcsolatban. BALDWIN és LEHNINGER és mások mutatják azt az utat, ahogyan a biokémia alapjait tanítani kell. Következésképpen bizonyára lehetséges olyan bevezető biokémiai kollégiumot tartani, amely minden kar hallgatóinak igényét kielégíti.

Ha egyetértetek velem abban, hogy a biokémia valóban értékes alaptudomány, amit ki lehet és ki kell egészíteni speciál kollégiumokkal, akkor bizonyára szükség van valakire, aki az egyetem vezetésében képviseli a biokémiai tárgy tanításának érdekeit. Itt - belátom - veszélyes kérdéseket érintek, mert nem tudok eleget a világ különböző részein lévő egyetemk hatalmi viszonyairól. Én csak azt tudom, hogy az Egyesült Királyságban bármely tantárgy szempontjából felmérhetetlenül nagy nyereség, ha van valaki az egyetemi tanácsban - a szenátusban -, aki a tárgy érdekeit képviseli és akit személyében is tisztelnek, megbecsülnek.

#### A központi tanszékek rendszere

A központi tanszékek működésében is számos nehézség van. A tanszékvezető dolga roppant nehéz. Állandóan egyensúlyoznia kell a különböző karok igényei között, s ugyanakkor - mint már említettem - arra kell törekednie, hogy a tanszék munkatársait hatékonyan foglalkoztassa és ez nem könnyű dolog. A központi tanszék oktató tevé-

kenységének legnagyobb részét a "segéd tárgy" jellegű oktatás teszi ki. Ebben a különböző karok különböző igényekkel lépnek fel s nehéz mindegyiknek eleget tenni. A kémiai és matematikai tanszékek példái mutatják, hogy ez ritkán sikerül. Másrészt a központi tanszékek roppant nagyra nőhetnek s így irányításuk a nagy létszám és nagy épület miatt lehetetlenné válhat. A nagy épület igénye külön probléma manapság, amikor egyre kevesebb pénz jut nagy beruházásokra. Ilyen körülmények között könnyebb úgy terjeszkedni, hogy az egyes karok "életteréből" csipkedünk le, mint egy óriási építkezés igényével fellépni.

### A tananyag

Most áttérek a tananyaggal összefüggő kérdésekre, vagyis arra, hogy mit tanítanak a különböző kollégiumok keretein belül. Már mondtam, hogy én a biokémiát önálló alaptudománynak tekintem s ez azt is jelenti, hogy - véleményem szerint - annak tényanyagát a tárgy általános elvei összefüggő egészszé formálják. Ebből következik, hogy egyáltalában nem tölt el örömmel, ha azt látom, hogy a tananyagot ma sokan különböző részletekre tördelve - anyagcsere, nukleinsavak, membránok, stb. címekkel ellátva - több kollégiumban adják elő. Ez oda vezet, hogy heterogén felkészültségű diákcsoportokat elkerülhetetlenül ismétlések és átfedések közepette képzünk. Ennél is nagyobb baj, azt hiszem, hogy ez a módszer a túl korai specializálódás szükségességének igényét ébreszti a hallgatókban, akik nagy valószínűséggel nem veszik észre a tárgyban rejlő egységet és későbbi munkájuk során nehezebben tudnak egyik témakörből egy másikba átkapcsolni. Nem kevésbé problematikus azonban egységes, áttekinthető szellemben megszervezni valamely főkollégiumban a tárgy oktatását. A biokémia oktatásában a fő nehézség az, hogy amíg a hallgató nem ismeri elég jól az alapvető fizikai-kémiai törvényszerűségeket, az egyes vegyületcsoportok szerkezeti jellegzetességeit, addig nagyon nehéz belátnia, hogy a megtanulandó részletek hogyan függenek össze, mennyiben alkotnak egységes tárgyat. Röviden arról van szó, hogy állandóan arra kell apellálnunk, hogy a hallgató bizzék abban: a dolgok később össze fognak állni valamilyen egységes képben. Az a benyomásom, hogy a mai idők légkörében ezt nem könnyű megtenni. A hallgató azt várja el, hogy minden előadás önmagában is érdekes és az addigi tárgyhoz tartozó legyen. Ezirá-

észrevételeikkel bizonyos mértékig magam is egyetérték. Gyakran meglep, hogy milyen mennyiségű kémiai alapismeret megtanulását várják el az orvostanhallgatóktól, még mielőtt a biokémia tanulásához hozzákezdenének, s mindannyian jól ismerjük a medikusok panasztát, hogy a biokémia az új idők anatómiája lett. Szóvá tettem már másutt, hogy olykor az oktatásnak mintha csak az lenne a célja, hogy korlátok közé szorítsa azok számát, akik valamilyen pályára léphetnek. Ezt mint oktatóknak állandóan szem előtt kellene tartanunk, s tananyagunkat ebből a szempontból is állandóan meg kellene vizsgálnunk. Az az oktató, aki megelégszik tavaly készített jegyzeteivel, amikor az idén ad elő, helyesebb volna, - ha kétszer is meggondolná, mielőtt így tesz, vagy legalábbis kérje ki munkatársai véleményét ez ügyben.

Van még egy probléma az átfogó, általános biokémiai tematikával kapcsolatban és ez különösen az angolszász típusu egyetemek előkészítő évfolyamain / az ún. "undergraduate" oktatásban / jelentkezik akkor, ha a teljes tematika tanítása egy, két sőt három évet vesz igénybe. Ennek az a veszélye, hogy olykor ugyanazt az alapozó anyagot ismételjük egyre nagyobb részletességgel. E miatt a diákok rendszerint megutalják az anyagot, ezért az ilyen ismétlések módozatait feltétlenül meg kell találnunk. A bevezető alapozó ismeretek megadása után inkább talán csak egyes szempontokat kellene megadnunk a részletes tananyaggal kapcsolatban.

#### Az IUB szerepe

Nagyon fontos, hogy ezt állandóan szem előtt tartsuk, mert az ember hajlamos arra, hogy másoknak tanácsot adjon arra vonatkozólag, hogyan oktassanak. Ez egyáltalában nem így van s nagyon sajnálatos, ha ennek csak a látszatát is keltjük. A Nemzetközi Biokémiai Unió /IUB/ keretein belül mi csak annyit tehetünk, hogy kerekasztal beszélgetéseket, előadássorozatokát, szemináriumokat rendezünk, s ezeken a különböző háttérrel rendelkező területekről érkezett résztvevők elmondhatják, mi látszik értékesnek tapasztalataik szerint. Abban reménykedhetünk, hogy a tapasztalatok cseréje hozzásegíthet ahhoz, hogy saját tanítási rendszerünkben célszerű változtatásokat tudjunk kezdeményezni. Ebben a vonatkozásban igyekezzünk biztosítani azt, hogy akik az ilyen szemináriumokat vezetik, jó kutatók és ne csak rutin-oktatók legyenek, akiknek alig van tudományos tapasztalatuk.

találtak. Elégé lehango, hogy az utobbi típus képviselői a modern világban milyen szilárdan megvetették lábukat az oktatás irányításában. Azt hiszem, hogy az iskoláinkban gyakran tapasztalható a alacsony oktatási nevelési színvonal nagyrészt az önkiszárgázásukit következménye.

Az IUB mindenütt igyekszik segítséget adni, de sahoz, hogy a segítségnek eredménye is legyen, bizonyos előfeltételeknek teljesülniük kell. Először is az szükséges, hogy egyáltalában fogadjanak s ez gyakran azon mulik, működik-e az adott helyen valami ilyen biokémiai társaság. Mennyivel hatékonyabban működhetnének akkor, ha minden országban volna olyan működő társaság, amely főképpen a fiatalabb biokémikusok nézeteit és céljait képviselné. Ilyen szervezetekkel boldogan együttműködnénk. Röviden: a fogadó országban léteznie kell valamilyen infrastruktúrának. Szomorú tény, hogy a nagyobb jólétben élő országokban sokkal könnyebb segítséget nyújtani, mint a szegény országokban. Másodsor: az oktatóknak olyan helyzetben kell lenniök, hogy érezzék: a helyzet javítható. Ellenkező esetben demoralizáltan viselkednek. Röviden szólva, nem várhatunk minőségi munkát az oktatóktól tárgyuk oktatásában, ha az egyetem fejlesztésének nincsenek jó feltételei. Ha az egész helyzetet világméretekben ebből a szempontból szemlélem, eléggé elcsüggesztő az elénk táruló kép. Nagyon gyakran -egyszerűen politikai okokból - egyetemek úgy terjeszkedtek, hogy nem gondoskodtak a hallgatóik megfelelő kiválasztásáról s nem teremtették meg az érkező hallgatók oktatásához szükséges feltételeket. A gyakorlati munka anyagi ellátottsága gyakran fájdalmasan nem megfelelő, nemcsak a biokémiában, hanem a kémiában és a fizikában is. Így aztán a diákok, akik az adott országban a gyér értelmiségi utánpótlás értékes palántái kellene, hogy legyenek, három-négy éven keresztül fél-munkanélküli állapotra vannak kárhóztatva, hogy azután a végén olyan diplomához jussanak, melynek értéke mind tudományos, mind pedig gyakorlati szempontból majdnem a semmivel egyenlő. Joggal kérdezhethjük, meglepő-é, ha ilyen körülmények között az összecsóditett és az egyetemi táborokban viszonylagosan elszigeteltségben élő diákok mozgolódni kezdenek és így az éppen uralmon lévő kormányzat és a diákság között tulságosan is az érzelmek által fűtött kapcsolatok alakulnak ki. Az általam festett kép min-

dennapos a fejlődő országokban, de nem ismeretlen az ugynevezett fejlett országokban sem. Ha a biokémikusok, mint elismert tudósok és oktatók csak annyit tennének, hogy megmondanák a felelős politikai vezetőknek : az egyetemek ilyen körülmények közti fejlesztése nem egyebet, mint értékes tartalékok elpocsékolását jelenti, nagyon hasznos szerepet töltenének be.

Végezetül elengedhetetlen, hogy legyen lehetőség szabad légkörben folyó megbeszélésekre és bíralatra. Ha a fiatal oktatók nem merik kinyitni a szájukat, hogy javaslatokat tegyenek, mert féltik a karrierjüket, akkor alig van remény a javításra. Sajnos, gyakran figyeltem meg, hogy ez a helyzet. Az IUB természetesen nagyon keveset tehet ez ellen, mivel ez az adott ország politikai viszonyainak a függvénye. Viszont az is igaz, hogy egyes biokémikusok a világ különböző országaiban jelentős közéleti tisztségeket töltenek be. Említhetnék sok biokémikust, akik például Helyettes Kancellárok, Elnökhelyettesek és így van némi reményem, hogy befolyásukat jó irányban fogják felhasználni.

Összefoglalva : az IUB szíves örömet segít az oktatás problémáiban. Nem vagyunk merevek, mivel pragmatikus biokémikusok vagyunk. Legjobban úgy tudunk segíteni, ha támogatjuk az egyes területeken dolgozó biokémiai társaságok munkáját tartalékaink és forrásaink jó felhasználásában.

---

# Trends in Biochemical Sciences

---

TALLÓZÁS a T I B S LAPJAIN 1979 január-szeptember

E lapot olvasói egyszerűen és röviden úgy szokták jellemezni, hogy érdekes. Érdekes elsősorban azért, mert nincs hivatalos "vonalvezetése, színes, kaleidoszkópszerű, sokrétű, így megfelel az emberi élet valóságának. A lap fóruma nem ismer tekintélytisztéletet, itt mindenkiről lehet jót is, rosszat is írni, itt mindenkivel vitába lehet szállni és minden emberi megnyilatkozásról el lehet mondani fonákságait. A Nemzetközi Biokémiai Uniónak e lapját talán azért olvassuk különös érdeklődéssel, mert van benne olyan, amivel egyetértünk, de olyan is, amivel nem.

Valamennyien szomorúan tapasztaljuk, hogy a tudomány tényleges megál-eredményeit, a tudományos elnevezéseket és általában a belső nomenklaturát hogyan használják fel ostobaságok reklámozására ellentétes csoportérdekek kicsinyes küzdelmeiben és sokszor olyasmire, ami teljesen értelmetlen. Aki szereti ezt a témát, az különös élvezettel fogja olvasni T.H.JUKES amerikai élelmiszerbiokémikus sziporkázóan szellemes, pamfletszerű írását az élelmezés tudományos anarchiájáról / The plight of nutrition, január /.

Nagyon valósnak éreztem és minden számban végig olvastam az "50 éve történt" rovatot és általában a történeti visszapillantásokat. Ezeket rendszerint idősebb, többnyire nyugállományban lévő, de nagyon jelentős munkateljesítményekkel rendelkező tudósok írják, akik már túl vannak életük nagyobb buktatóin és az idősebb ember higgadtságával és realitás-érzékeléssel tudnak nyilatkozni dolgokról : F.LIPMANN az 50 éves ATP-ről, J.S.FRUTON az 50 éves dezoxiribózzal, A.TREIBS a hemin szintézisének történetéről, R.E.OL-

SON pedig a K-vitamin felfedezésének 50-ik évfordulóján nyilatkozik. Ezek a hiteles történelmi dokumentumok nemcsak valóságszerű hatásuknál fogva, hanem az ifjuság oktatásában és nevelésében is lényegesek, mert a tudomány történetét és ezen belül személyek jelentőségét tankönyvekből meg jegyzetekből megismerni nem lehet. Ezért melegen ajánlom orvostanhallgatóimnak E.CHAINnek FLEMINGről és a penicillinről szóló hiteles számadását, és a klinikai meg orvostörténeti szempontból egyaránt érdekes glikogénraktározási betegségek felfedezésének leírását F.HUIJINGTól. Ugyancsak félévszázados históriát mesél el A.BUTENANDT az ösztronról a lap szeptemberi számában.

Legkevésbé felelnek meg az olvasó várakozásának az egyértelműen biokémiai szakcikkek, amelyek még ha megfelelő színvonalúak és többnyire összefoglaló jellegűek is, megtalálhatók az ismert szaklapokban is. Ilyen pl. D.SAGGERSON cikke /február/ az inzulin és a zsírsavanyagcsere kapcsolatáról, amely nem ad több információt a szóbanforgó kérdésről, mint bármely lipid témájú folyóirat tucatszámra található összefoglalóinak egyike. A.G.DAWSON cikke /augusztus/ az extramitokondriálisan képződő redukciós ekvivalensek sejten belüli transzportjáról - nem haladja meg egy ugyanilyen témájú egyetemi tantermi előadás információ-tartalmát. Nagyon vitatható általában a hipotézisek tudományos értéke, meg az, hogy ezeket egyáltalában érdemes-e leírni, de úgy érzem, hogy teljesen felesleges ezeket egyesületi lapban közölni, mint pl. J.F.ROBYT cikket /február/ -javasolt reakciómechanizmusával.

Nagyon jó ötlet a tudományos irodalomban fellelhető és szerzőtől szerzőre öröklődő hibák feltárása és korrekciója, bár erősen terheli az a csapda, hogy a korrekció maga is hibás lesz. - C.F.A.BRYCE eszme-futtatása /március/ az S-adenozil-metionin koenzim jellegéről művitának imponál. - A retorikai párbaj általában céltalan és többnyire csak lélektani szempontból érdekes. Ebbe a kategóriába tartozik pl. R.HUBBARD és E.RACKER vitája a tudomány jelentőségéről.

Társaságunk tagjai között többen vannak olyanok, akik orvostanhallgatókat tanítanak biokémiára. Ezeknek a kollégáknak bizonyosan feltűnik egy olyan címszalag, amely azt kérdezi: kell-e egy orvosnak biokémiát tudnia? /április N.85/. Ez megint vita-

anyag, melyet A.KORNBERG indított el 1978 áprilisi cikkével - és a kérdőmondatos cikk ennek kijelentéseire válaszol. Én egyik szemponttal sem értek egyet, de azért mindkettőt érdemes elolvasni az érvelések figyelemreméltó szakmai háttere miatt.

Ajánlani tudnék néhány érdekes olvasményt : Inzulin és inzulinyszerű fehérjék szerkezete / T.BLUNDELL, április/; J.N.BAILEY cikke /március/ érdekes adalék gyógyszerek káros hatásairól. Sokan tudják, hogy vannak kőzetképző baktériumok, de azt már kevesebben, hogy baktériumokkal bányászni is lehet. Erről szól R.MANCHEE cikke /április/. A karbamoilfoszfát-szintetáz szabályozásával kapcsolatban elég friss anyagot közöl A.J.MEIER cikke /április/. G.J.MULDER /április/ régi, örökzöld témáról ír : A máj biotranszformációs funkcióinak káros következményeiről. A májusi vitafórum /N.106/ a folyóiratoknak beküldött kéziratok referálásának örökké visszatérő, soha be nem fejezhető vitáját eleveníti fel. Akik az aminosavak intermedier anyagcseréjével foglalkoznak, azok talán hasznosnak fogják találni K.SNEL összefoglalóját a glukoneogenezisről és ebben az alanin különleges szerepéről /július/.

Vannak emberek, akiknek a nevét szinte mindenki ismeri, de életművüket ugyyszólván senki. Egy ilyen különleges hiányt pótol D.B.SMITH fényképes riportja a 20 éve elhunyt M.L.MERTEN asszonyról /július N.150 /. F.LIPMAN életművéről már valamivel többet tudunk, mégis jóleső érzés róla olvasni D.RICHTER és H.HILZ emlékezéseit a vele eltöltött munkaidőkről.

A TIBS mérlege mégiscsak pozitív, érdekes megvenni és főleg olvasni.

ALKONYI István



AZ IMMUNKÉMIA SZÜLETÉSE ÉS FEJLŐDÉSE /1890-1965/

Felix HAUROWITZ nyomán : T.SZABÓ Mária

F.Haurowitznak a Trends in Biochemical Sciences 1979.évfolyamának novemberi számában fenti címmel megjelent írását az alábbiakban kivonatossan ismertetjük.

Az immunitás,immunizálás koncepciója az 1790-es évek végén keletkezett, azután,hogy JENNER előzetes megfigyelései alapján emberi himlő ellen sikerrel "vakcinált" egy gyermeket. Tehénhimlővel fertőzött fejőlány kezén lévő hólyagok tartalmát a gyermek felsértett karjához dörzsölte.Ez volt az első"immunologiai" kísérlet,amelynek gyakorlati következménye végül a himlő leküzdéséhez vezetett,s amely forradalmi hatást gyakorolt az orvostudományra. Ebben a korai időszakban semmiféle kapcsolat nem volt a kémia és immunológia között. Csaknem száz évnek kellett eltelnie ahhoz, hogy az immunologia tudománya felvirágozzék. Az immunologia a mikrobiológia rohamos fejlődése következtében és annak rész tudományaként könyvelhetete el azokat a hallatlanul nagy gyakorlati jelentőségű eredményeket, amelyek az elméleti alapok lerakását lehetővé tették /pl. PASTEUR : kolera, lépfene, veszettség elleni oltás -1870-1881; MECSNYIKOV : a fagocitózis jelensége -1883,sth/

Az immunkémia születése a mult század végére tehető.Ebben az időben E.BEHRING és S.KITISATO kimutatták, hogy a diftéria ellen termelt szérum /antitoxin,ellenanyag/ semlegesíti a diftéria toxint /antigén/. Ez a felfedezés már gyanítani engedte,hogy az antigén és az antitest közötti kapcsolódás kémiai reakció. 1898-ban alkotta meg P.EHRLICH az immunitás "side chain" /receptor/ elméletét. E szerint a sejteken többféle receptor van,s ha közülük az egyikfajta valamilyen antigénnel kapcsolódik,akkor a sejt azt a receptort fokozottabban termeli; majd a receptor oldatba jut, és ellenanyagként specifikusan képes reagálni az antigénnel /antigén-antitest komplex/. EHRLICH felkérésére ARRHENIUS tanulmányozta az antigén-antitest kölcsönhatás mechanizmusát, s ezt a következőkben formulázta : antigen + antitest ===== antigen-antitest - vagyis kétségtelenül molekulának tekintette mindkettőt. Az antigén-antitest kölcsönhatással foglalkozó könyvének az "Immunkémia" címet adta /1907/.

Az antitest kémiai természete sokáig vitatott volt és maradt. Az immunológiai reakciók kémiai alapjainak a megértéséhez nagyban hozzájárult R.KRAUS /1897/ felfedezése, amely szerint fehérje is lehet antigén és vele szemben nagyon specifikus ellenanyagot lehet nyerni. 1906-ban E.P.PICK és F.OBERMAYER azt találták, hogy jódozott fehérjékkal szemben kétfajta ellenanyag képződik : egyik a jódozott tirozin oldallánccal szemben, a másik a fehérje "többi részével szemben termelődik. Ezek a kísérletek vezettek el a kémiailag jelzett antigének használatához, amelyeket legnagyobb sikerrel LANDSTEINER alkalmazott. Klasszikus monográfiájában a kémiailag jelzett antigénekre adott immunválasz specifitását vizsgáló kísérleteit foglalta össze /1916/. Kémiai módosításra alkilezést, acilezést, diazotálást alkalmazott s az egyszerű precipitin próbával bizonyította, hogy az antigén molekula alakjának, térszerkezetének milyen nagy jelentősége van az immunológiai specifitásban.

A specifitás vizsgálatával párhuzamosan többen kvantitatív kémiai alapokra próbálták helyezni antigén-antitest reakciót. Pl. HSIEN WU /1927/, M.HEIDELBERGER /1929/ és F.HAUROWITZ /1930/ különböző kémiai módszerekkel határozták meg az antitest-antigén csapadéokban az antigén, ill. az antitest mennyiségét. Az 1930-as évek táján bebizonyosodott, hogy az antitest tulajdonság az immunszérum globulin frakciójában van, de azt még nem ismerték, hogy az ellenanyag specifitását egyes aminosavak hordozzák-é vagy valamilyen nem fehérje természetű prosztetikus csoport határozza meg. Minthogy 1940-ig a fehérjében csak egyes szinreakciót adó aminosavakat tudtak meghatározni, ezért csak az volt megállapítható, hogy nincs különbség a normál és immunszérum között a szinreakciót adó aminosavtartalom tekintetében.

1939-ben TISELIUS és KABAT bebizonyították, hogy az ellenanyagok gamma-globulinok, mert a normál szérum gammaglobulin frakciójával azonos mozgékonyaságuk. Két alapvetően különböző molekulásúly ellenanyag van :  $1.5 \times 10^5$  Dalton, ill.  $8 \times 10^5$  Dalton molekulásúly; ezeket később IgG-nek és IgM-nek nevezték el.

Az eddig ismertett periodusban az immunkémia éppen csak a kezdeti lépéseket tette meg a felvirágzás felé, amely az ellenanyag szerkezetvizsgálatával kapcsolatos. PORTER /1958/, NISONOFF és munkatársai /1960/ kezdték el az IgG és az enzimatis fragmentumok

szerkezeti vizsgálatát, amelyre a koronát EDELMAN eredményei tették fel. Kiderült, hogy az IgG molekula diszulfid-hidakkal összekapcsolt 4 polipeptidláncból áll. A vizsgálat során nehézséget jelentett az az ellentmondás, miszerint a négy lánc ellenére csak két szabad N-terminalist találtak. Csak később azonosították a ciklusos pirollidonkarbonsav-végcsoportot. Az izolált immunglobulin láncokban nagy heterogenitást mutattak ki, mert az izolált nehéz és könnyű láncok számos hasonló, de nem azonos lánc keverékei voltak. Így az aminosavszekvencia meghatározása szinte lehetetlennek tűnt. A szerkezetvizsgálat közben számos fizikai-kémiai módszert alkalmaztak és továbbfejlesztettek: elektroforézis, jelzett antigének és antitestek használata, stb., de egyikkel sem sikerült homogén ellenanyagot nyerni annak ellenére, hogy antigénként gyakran homológ poliszaharidot adtak.

Ezért nagy jelentőségű az immunkémia történetében EDELMAN-nak az a felfedezése, hogy a myelomás betegek vizeletében található Bence-Jones fehérje tipikus immunglobulin könnyüláncból áll. /1962/. Minthogy a normális immunglobulinokkal szemben a myeloma fehérje homogénnek bizonyult, aminosavsorrendjét meg tudták határozni. Ásványi olaj intraperitonealis injekciójával egerekben is sikerült homogén myeloma fehérjéket nyerni. 1962 - 1965 között számos human és egerből származó myeloma fehérje szekvenciáját határozták meg és hasonlították össze. E kísérletek eredménye nyújtott lehetőséget a szerkezet és funkció kapcsolatának, az immunglobulin szintézis mechanizmusának a kutatásához és szolgáltatott alapokat az immunológia genetikai vonatkozásainak a tanulmányozásához.

HAUROWITZ az immunkémia történetét 1965-ig foglalta össze. Az azóta eltelt másfél évtized alatt az immunológia hatáskörébe vonta a biokémiát, a molekuláris biológiát, genetikát, általában a biológiai tudományokat, s önálló tudományág, az immunbiológia született. E korszak történetét s benne az immunkémia és immunbiokémia eredményeit bizonyosan érdekes, de nem könnyű feladat lenne ismertetni.

## GÉNSEBÉSZET ÉS AZ EVOLUCIÓ

### /Az egocentrikus Escherichia coli/

A TIBS 1980. januári számában igen érdekes cikket olvashatunk a génsebészet mikrobiológiai vonatkozásairól. O.M. NEIJSSSEL, az Amsterdami Egyetem mikrobiológusa által leírt néhány gondolat a génsebészet eredményeinek hasznosításakor felmerülő problémákhoz kapcsolódik. Ugy vélem, hogy ez a divatos, nagy reményekre jogosító kutatási terület, amelynek eredményei közül a szomatosztatin és proinzulint termelő baktériumok megalkotását jelentős eredménynek tekinthetjük, indokolja a cikk ismertetését azok számára is, akik eleddig közvetlenül nem találkoztak a témával.

A rövid problémafelvetés rávilágít az ipari alkalmazhatóság legkényesebb pontjaira, aminek megoldása nagy lehetőségeket nyújtana a génsebészet eredményeinek gyakorlati hasznosításában. A szerző a MONOD által 1942-ben leírt összefüggés realitásában, érvényesülésében látja a génsebészeti uton előállított rekombináns genetikai labilitásának okát. Miszerint a növekedési ráta

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{K_s + S} \quad , \text{ ahol}$$

S a növekedést limitáló táptalaj-komponens mennyisége; a  $\mu_{\max}$  értéke az organizmustól és a tenyészközegtől függő állandó; a  $K_s$  az affinitási állandó, melynek értéke a törzstől és a limitáló táptalaj természetétől függ. A magasabb  $\mu_{\max}$ , ill. alacsonyabb  $K_s$ -sel rendelkező szervezet vagy amelyik a két állandó előnyösebb kombinációjával rendelkezik, az gyorsabban nő, mint a versenytárs és túlnövi azt. Végeredményben a Monod-féle egyenlet a darwini evolúciós eszme matematikai leírása, azaz egy bizonyos baktériumtörzs alkalmazkodása egy bizonyos környezethez, illetve a legalkalmasabb kiválasztódása a kialakuló növekedési sebességkülönbségek alapján. A baktérium tenyészet növekedésekor elkerülhetetlen mutációk megjelenése, ezeknek elszaporodása azonban csak akkor várható, ha a  $\mu_{\max}$  értéke nő vagy a  $K_s$  értéke csökken a szülő törzshöz képest. Általában a mutáció eredményeként kialakuló anyagcsere végül is alacsonyabb  $\mu_{\max}$ -ot eredményez. Auxotróf mutáns nem nő, ha a limitáló faktor koncentrációjának értéke nulla.

Alkalmasan megválasztott tenyésztési körülmények azonban a mutans felszaporodásához is vezethetnek. Laktóz-limitált körülmények között növekedő kemosztát tenyészetben alacsony növekedési sebesség esetében olyan mutáns szaporodik fel, amelyben a béta-galaktozidáz szint magasabb. Ennek a mutánsnak a limitáló táptalajkomponenst hasznosító kapacitása nőtt a szülő törzshöz képest /alacsonyabb  $K_s$  érték/. Általános az a tapasztalat, hogy a növekedő tenyészetben a szülő és a mutáns között kialakuló versenyben a környezethez jobban alkalmazkodó győz.

A rekombináns DNS technikában előszeretettel használják az R-plazmidot, amely az antibiotikum rezisztencia információját tartalmazza. A plazmid megőrzését a táptalajhoz adott antibiotikummal korlátlan ideig biztosíthatjuk, hiszen a plazmid nélküli mutánsok elszaporodását a jelenlévő antibiotikum megakadályozza. Antibiotikum nélküli táptalajon tenyésztve, a plazmid nélküli vad törzsek elszaporodását figyelhetjük meg. Ez várható is, hiszen az R-plazmid szintézis egy tehertétel az őt hordozó számára, alacsonyabb  $u_{max}$  értéket eredményez - összehasonlítva az R-plazmid nélküli isogen törzsszel. Ez a számunkra kemoterapiai szempontból hasznos jelenség felhívja a figyelmet arra, hogy a mikroorganizmus számára a genetikai tehertől való szabadulás, egy genom deléciója, növekedési előnyt jelent.

Az eukarióta szomatosztatin gén R-plazmidba építve csak antibiotikumot tartalmazó táptalajon tenyésztett gazdaszervezetben marad meg. Ha a szomatosztatint kódoló gént béta-galaktozidázt kódoló génbe építik, akkor az így nyert gén terméke béta-galaktozidázt és szomatosztatint tartalmazó fehérje, amiből ciánbromidos kezelés útján nyerhető a szomatosztatin. A rekombináns által termelt fehérje nem funkcionáló nonszensz fehérje. Nem ismeretes olyan szelekciós módszer, ami ezen nonszensz fehérje termelésére vonatkozna, sőt inkább lehet szelektálni e nem funkcionáló fehérje in- produktív termelése ellen. ITAKURA és munkatársai /1977/ a fenti esetben a lac-operonban jelentős mértékű deléciót figyeltek meg a szomatosztatin termelés céljából végzett tenyésztés során. Található az irodalomban olyan közlés is, ami szerint emlős enzim genetikai információját stabilan hordozta a baktérium, de ebben

az esetben megtalálták azt a szelektív ágenszt, ami a rekombinánst stabilizálta. CHANG és munkatársai az egér dihidrofólsav-reduktáz gén szekvenciáját vitték baktériumba /1978/. Mivel ez az emlős enzim trimethoprimre kevésbé érzékeny, mint a bakteriális enzim, ezért trimethoprimot tartalmazó táptalajon csak a rekombináns elszaporodása tapasztalható.

NEIJSSEL a génebézszeret eredményeit igen nagy jelentőségűnek tartja, az eljárás alkalmazását azonban csak olyan esetekben látja indokoltnak, amikor nincs más lehetőség a kérdéses anyag előállítására /pl.interferon/. Az eredmények gyakorlati realizálása szempontjából pedig a rekombinánsok tenyésztési körülményeinek kimunkálását legalább olyan fontosnak tartja, mint az organizmus genetikai szerkezetének megalkotását.

A NEIJSSEL által felvetett gondolatok alapján nyilvánvaló, hogy a kifejeződő rekombinált DNS információ megőrzése, azaz az új tulajdonság megőrizhetőségének biztosítása ma a fő feladat. Kérdés, hogy az evolúció évmilliók óta jól működő szerkezetének kikapcsolása, a mutáció és a szelekció kiiktatása gyakorlatilag megoldható-e, és ha igen, akkor milyen áron oldható meg. Ugy tűnik, hogy a gyakorlati továbblépés kulcsa is a génebézszeret művelőinek kezében van. A rekombinánsokban olyan génszerkezetet kell kialakítaniuk, amelynek a stabilitását az evolúció mozgató rugója, a szelekció, biztosítani tudja.

SZENTIRMAI Attila



## NUKLEINSAV MUNKAÉRTEKEZLET - Csopak, 1980 május 21-24

A siklósi /1976/, majd a keszthelyi /1978/ találkozót követően az idén harmadik alkalommal találkoznak a hazai nukleinsav kutatók. Bár a kezdet romantikus volt, szervezési szempontból korántsem egyszerű: az első találkozó legalább 3 szerv védnöksége alatt jött létre. Azzal, hogy Társaságunk a MTESZ tagja lett, a szervezés lényegesen egyszerűsödött. Az idei találkozó iránti érdeklődés felülmúlja a korábbiakét: Mintegy 80 jelentkezés futott be s az előzetes felmérés alapján legalább 40 előadás várható - ezek mindegyike kísérleti eredményekről számol be. Tervezünk néhány referátumot is. Bizunk benne, hogy a májusi találkozó a hazai nukleinsavkutatás teljes keresztmetszetét adja majd. A kutatásoknak ez az ágazata nálunk is sokat fejlődött és az ipar számára bizonyára több lehetőséget kínálhat, mint amennyit jelenleg ténylegesen ki is használnak.

Társaságunk elnökségének határozata értelmében a csopaki munkaértekezlet továbbképzésnek minősül, így a 12/1979/VII.21/PM-MUM együttes rendelet szerint -az élelmezési norma betartása mellett- az ellátási költségek és a szállásköltségek együttes összege nem terheli a kiküldő szerv reprezentációs keretét. - Felvilágosítást a Társaság titkársága nyújt / 1055 Bp. Kossuth tér 6-8. 119-834 /

MOLNÁR János

## KÖZÖS BIOKÉMIAI VÁNDORGYÜLÉS

előzi meg a Magyar Biokémiai Társaság és a MKE Biokémiai szakosztályának egységes szervezetté történő alakulását. A közös tudományos program kialakításával Társaságunk HIDVÉGI Egont, GÁRDOS Györgyöt és FRIEDRICH Pétert bizta meg. Őszintén reméljük, hogy a siófoki találkozó /szept.30-okt.3/ előrelépést jelent a szervezeti egység megvalósításában is.