

BIOKÉMIA

A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET TÁJÉKOZTATÓJA
VII.évf.4.szám 1983 december

Szerkesztő bizottság : ALKONYI István, BAGDY Dániel, FALUS András,
GERGELY Pál, GRÁF László, T.SZABÓ Mária,
SZÁSZ Ilma és SZEBERÉNYI Szabolcs

Felelős szerkesztő : BAGDY Dániel

Technikai szerkesztő : BÖLÖNI Erzsébet és JURÁCSIK János

+

A tartalomból :

I d ő s z e r ű k é r d é s e k

Génsebészet és biotechnológia

Ujjonnan felismert növénykórokozók : a viroidok

A biológiai nitrogénkötés fokozásának elvi lehetőségei

Hibrid mielómák által termelt monoklonális ellenanyagok

Gondolatok a biotechnológia hazai helyzetéről és lehetőségeiről

F i g y e l ő

Az áltudományok kérdéséhez

Tallózás a TIBS lapjain

Hogyan írjunk Abstract-et ?

B e s z á m o l ó k tudományos rendezvényekről

Uppsala Biochemical Separation School

International Workshop on Proteinase Action

A Fehérje szakosztály munkaértekezlete

H i r e k és e s e m é n y e k

HÁRI Pál emléke

Pályázati felhívás

Egyesületünk Gazdasági Bizottságának ülése

E szám szerzői :

+

Alkonyi István POTE Biokémiai Intézet

Andó István MTA SZBK Genetikai Intézet

Antoni Ferenc SOTE I.Kémiai-Biokémiai Intézet

Elődi Pál DOTE Biokémiai Intézet

Friedrich Péter MTA SZBK Enzimológiai Intézet

Gergely Pál DOTE Orvosi Vegytani Intézet

Hidvégi Egon OSSKI

Kondorosi Ádám MTA SZBK Genetikai Intézet

Solymosy Ferenc MTA SZBK Növényélettani Intézet

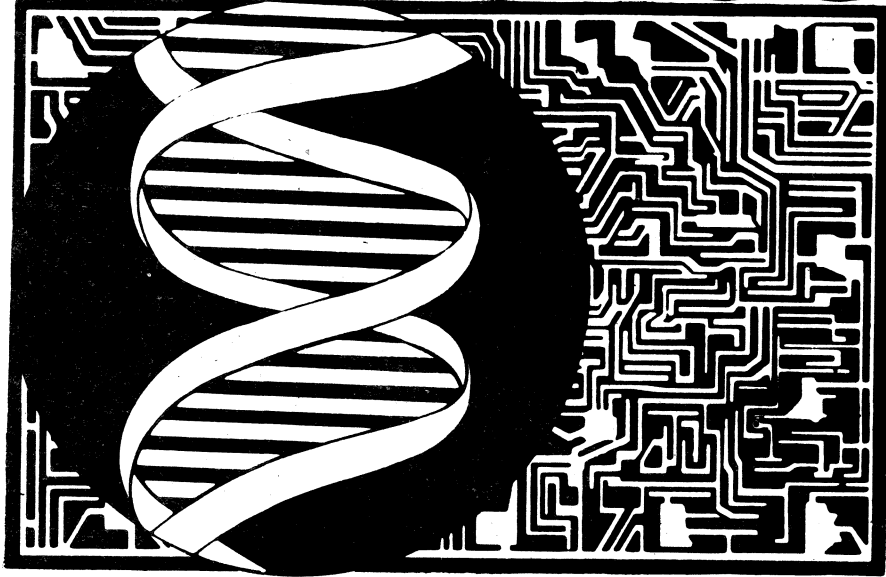
Tigyi Gábor MTA SZBK Biofizikai Intézet

Venetianer Pál MTA SZBK Biokémiai Intézet

Bagdy Dániel Gyógyszerkutató Intézet

Biotechnologia

Biotech83



GÉNSEBÉSZET és BIOTECHNOLÓGIA

A génszűrés az a biokémiai technika, amellyel lehetségessé válik az öröklődési anyag, a DNS, meghatározott pontokon történő vágása és újra összekapcsolása. A génszűrés kísérletekben tetszés szerinti eredetű, természetes vagy mesterséges DNS darabokat kapcsolnak hozzá olyan ún. vektor-DNS-hez /általában plazmid vagy vírus/, amely bejuttatható egy sejtbe és ott önállóan szaporodásra, megkettőződésre képes, vagy be tud jutni a sejt öröklési állományába. Ennek eredményeként az idegen DNS darab tovább szaporodik a sejtrel együtt és az általa hozott információ esetleg meg is nyilvánul. E technika jelentősége a biológiai tudomány számára külön tanulmányt érdemelne. Itt most csak azzal a kérdéssel foglalkozom, hogy a biotechnológia számára mit jelent? Az egyik szélsőséges vélemény szerint a modern biotechnológia gyakorlatilag egyenlő a génszűréssel. A másik - konzervatív szélsőség azt állítja, hogy a génszűrés körüli látványos hókusz-pókusz semmit sem fog hozni a gyakorlat számára. Mindkét nézet könnyű megcáfolni, különösen az utóbbit, hiszen már megjelentek a piacon - voltaképpen páratlanul rövid idő után - az első, génszűrés-

ti úton előállított termékek. Másrészt az is biztos, hogy a génsebészeti technika bizonyos, iparilag nagyon fontos hatóanyagok / pl. antibiotikumok/ esetében egyelőre nem látszik alkalmazhatónak. Azt mondhatjuk, hogy a génsebészet olyan új módszer, amely a biotechnológia mozgásterét rendkívül nagy mértékben tágítja, az alkalmazások új lehetőségeit teremti meg. Célszerű röviden áttekinteni azokat a legfontosabb új lehetőségeket, amelyek már megvalósultak, illetve megvalósulásuk a közeli jövőben biztosan jósolható. A következő csoportosítás és felsorolás természetesen önkényes és vázlatos - a dolog természetéből adódóan nem is lehet más.

Törzsnemesítés és génsebészet

A biotechnológia hagyományos területein a produkció fokozásának legfontosabb eszköze a törzsnemesítés - általában mutáció és szelekció útján. Ez igen hatékony eszköz lehet, esetenként 100 - 1000-szeres produkciönövekedéshez is vezethet, de teljesen véletlenszerű és irányíthatatlan, így a kívánt eredmény eléréséhez általában rendkívül nagyszámú törzs átvizsgálása szükséges. Ez ma már csak a legnagyobb cégek számára járható út. Génsebészeti technikával elvileg elérhetőek ugyanezek az eredmények - tervszerű és irányított beavatkozással. Tehát ha például ismert egy bonyolult anyagcsereút szűk keresztmetszete, akkor ennek a szűk keresztmetszetet jelentő enzimnek a génjét lehet klónozni, így a gén kópiaszám növelésével az egész folyamat sebessége fokozható. Ugyancsak megvalósítható az, hogy szabályozó szignálok megváltoztatásával jelentősen növeljék egyes enzimek termelését. A biotechnológia "hagyományos" területén megvalósítható mikrobiológiai eredetű termékek eredményesebb előállítására a hagyományos törzsnemesítés számára hozzáférhetetlen utakon is. Ha pl. egy fontos hatóanyagot egy lassan növő, drága táptalajt igénylő mikroorganizmus termel, elképzelhető az anyag szintézisét meghatározó gén átültetése egy könnyen és olcsón tenyészthető mikroorganizmusba. A génsebészet ilyen típusú felhasználási lehetőségeire már számos példát ismerünk: pl. treonint, triptofánt vagy lizint termelő baktérium- és élesztő törzsek, a kutatómunkában használatos fontos enzimeket / DNS-ligáz, polinukleotid-kináz, restriktív endonukleázok / nagy mennyiségben termelő baktériumtörzsek, stb.. Sok esetben a felhasználó nem is tudja, hogy a termék már génsebészeti eljárásnak köszönhető, legfeljebb a hirtelen nagy mértékű árcsökkenés utal erre.

Fehérjetermelés és génsebészet

Az előbbieken felsoroltaknál sokkal fontosabb az az egyedül a gén-

sebészeti technikának köszönhető lehetőség, hogy növényi, állati vagy emberi eredetű fehérjék termelhetők mikroorganizmusok által - a megfelelő gének átültetése után. A már megvalósult eljárások közül elég csupán az emberi inzulin, interferon és növekedési hormon termelésére utalnunk. Kétségtelenül az inzulin keltette a legmagyobb szenzációt - egyrészt azért mert ez valósult meg először, másrészt, mert ennek a hormonnak van a legnagyobb piaca. Ennek ellenére a jövő szempontjából talán fontosabb a növekedési hormon előállítása, az emberi inzulin ugyanis nem jobb és egyelőre nem is olcsóbb a hagyományos uton előállított termékénél. A növekedési hormon esetében azonban a hagyományos módszerekkel rendkívül kevés volt előállítható /következésképpen csillagászati áron/, így a génszbészeti uton olcsón és nagy mennyiségben előállított termék olyan új alkalmazásokat hozhat, amelyekre korábban gondolni sem lehetett. Számos más emberi fehérje - véralvadási faktorok, véralvadásgátlók, egyéb hormonok - génszbészeti előállítása folyamatban van s ezek a klinikai alkalmazás új útjait nyithatják meg. Az állati növekedési hormon olcsó előállításának az állattenyésztésben lehet jelentős szerepe.

A vakcinatermelés új lehetőségeit kínálja a génszbészet. Egyes vírusok laboratoriumi tenyésztése rendkívül nehéz vagy lehetetlen. Más esetben a vírus veszélyes volta nehezíti a hagyományos vakcinatermelést. A vírus antigénsajátságaiért elsősorban felelős egyetlen gén klónozásával nagy mennyiségben termelhető veszélytelen antigén. Laboratoriumi méretben már megoldott a száj- és körömfájás, valamint az emberi fertőző májgyulladás antigénfehérjéit kódoló információ klónozása.

Az eddigiekben felsorolt példák már megvalósult, illetve a közeljövőben megvalósuló alkalmazások voltak. Érdemes azonban néhány távolabbi lehetőségre is felhívni a figyelmet.

A gyakorlati alkalmazás szempontjából egyáltalában nem biztos, hogy a természetes peptidek és hormonok optimális szerkezetűek. A rövid peptidhormonok esetében számos példa ismert arra nézve, hogy a természetestől eltérő szerkezetű szintetikus származékok előnyösebben használhatók. Nagyobb peptidek vagy fehérjék esetében ilyen változtatások kipróbálására eddig nem volt mód. A génszbészeti technika lehetőséget nyújt erre. Ismeretes az is, hogy a hetvenes években az irányított DNS szintézis kutatása rohamosan fejlődött. 10-20 nukleotidból álló szintetikus oligonukleotid előállítása géppel néhány óra alatt megoldható rutinfeladat, de teljes fehérjemolekulát kódoló gén / pl. inzulin, interferon / kémiai szintézisét is megoldották. Megvalósítható pl. egy természetes fehérjét kódoló gén meghatározott

szakaszán a DNS kicserélése szintétikus darabokra, azaz nagyszámu, adott pontban létrehozott mesterséges mutáció konstrukciója, majd a sejtben szintetizált mutáns fehérjék elemzése. Az irányított mutagenézisnek a szintétikus módszerek igénybe vétele nélkül is számos lehetősége van, az alap kutatásban ez az ún. "fordított genetika" már általánosan használt módszernek tekinthető. Bár a fehérjeszerkezet és funkció összefüggéseinek ismerete még nem jutott el oda, hogy meghatározott funkció elvégzésére optimálisan alkalmas fehérjemolekulákat tudjunk tervezni, bizonyos valószínűséggel predikálhatók egyes aminosavcserek várható hatásai. E lehetőségek aránylag gyors és olcsó kipróbálására alkalmas a fent említett mutánselőállítás technika.

Génbevitel magasabbrendű élőlényekbe

Minden eddig felsorolt alkalmazási lehetőség a mikroorganizmusokba történő génbevitel jól kidolgozott technikáin alapul. Az esetek döntő többségében ez a mikroorganizmus az *E. coli*, ezenkívül a leggyakrabban alkalmazott gazdasejtek az élesztő és *Bacillus subtilis*. A magasabbrendű élőlényekbe, növényekbe és állatokba történő génbevitel sokkal bonyolultabb problémát jelent, ennek megoldása jelenleg a laboratóriumi kutatás központi kérdése. E téren az elmúlt év során néhány látványos kísérleti eredmény született.

1982 decemberében közölték a *Nature/London/-ben*, hogy a patkány növekedési hormon génjét sikerült bevinni egér megtermékenyített petesejtjeibe. Az ilyen zygotákból felnevelt egerek vérében kimutatható volt a patkány-hormon magas szintje, és az egerek testmérete átlagosan csaknem kétszerese volt az ugyanazon szülőpártól származó kezeletlen kontrollokénak.

A növényvilágban a legújabb eredmény: dohánysejtekbe vitték be az élesztő alkoholdehidrogenáz enzimjét kódoló gént egy bakteriális eredetű plazmid segítségével. A sejtekből sikerült ép dohánynövényt nevelni, amelyben az élesztőgén aktivitása kimutatható volt. Azt is sikerült kimutatni, hogy az új tulajdonság a mendeli szabályok szerint öröklődik.

Emberen ilyen kísérletek - természetesen - nem végezhetők. Azt azonban már évekkel ezelőtt kimutatták a Nobel-díjas BERG laboratóriumában, hogy egy súlyos örökletes anyagcserebetegségben szenvedő betegből származó tenyésztett testi sejtek "meggyógyíthatók" a páciensből hiányzó enzimet kódoló bakteriális gén beültetésével.

Ezek az eredmények - ha nem is engednek meg biztos következtetéseket - erősen valószínűsítik azt, hogy az irányított génbevitel

a magasabbrendűekbe is rutinszerűen alkalmazható eljárássá válik a jövőben. Ennek gyakorlati kihasználása az állattenyésztésben és a növénytermesztésben a jelenlegi kutatások legizgalmasabb perspektívája.

H o l a b a t á r ?

A jelen és jövő alkalmazási lehetőségeinek fenti vázlatos áttekintésével kulcsfontosságú kérdéshez jutottunk el : Hol a határ ? valóban korlátlanok a génszélesítési technika által megnyitott perspektívák ? jogosan hihetik-e a molekuláris biológusok, hogy egy - ezekkel a kérdésekkel foglalkozó szenzációhajhász könyv címét idézve "Istent játszanak", akik tetszés szerint konstruálhatnak új élő szervezeteket ? A válasz egyértelmű és határozott nem. A DNS átszabásának, újrakombinálásának, módosításának lehetőségei valóban korlátlanok - a kémcsőben. Ezt az átalakított DNS-t azonban be kell juttatni egy élő sejtbe és annak ott meg kell nyilvánulnia, a sejt saját genetikai programjával összhangban. Ez pedig igen szigorú és nehezen teljesíthető követelmény. A génszélesítés veszélyei körül folyó heves vita csúcspontján egy - különben kiváló - biokémikus drámai szavakkal figyelmeztetett arra a szörnyű fenyegetésre, amelyet az "evolúció sokmilliárd éves szűrőjét" kikerülő felelőtlen manipuláció jelent. Ez azonban teljes tévedés. Szó sincsen az evolúció szűrőjének kikerüléséről. Ezt a szűrőt képviseli ezekben a kísérletekben minden - a maga nemében tökéletes - élő sejt, amelybe a DNS-t bejuttatjuk. Ugyancsak gyakran emlegették a vitában azt a horror-mesét, hogy a közönséges *E.coli* baktériumot / amely a leggyakrabban alkalmazott gazdasejt / felszerelik valamilyen szörnyű toxinnal, vagy megnövelik a patogenitását és az a baktérium akár szándékosan, akár véletlenül kijuttatva a laboratórium falai közül, villámgyorsan elterjed és pusztító járványt okoz. A nagy felkészültséggel elvégzett biztonsági ellenőrző kísérletek egyértelműen bizonyították, hogy ez lehetetlen. A "szörnyszülöttek" - ha a laboratóriumban egyáltalán létrehozhatók - tökéletesen versenyképtelenek "vad" társaikkal szemben és a mesterséges laboratóriumi környezetben kívül feltétlenül elpusztulnak. Megállapítható, hogy a génszélesítési kutatások eddigi tízéves története során még nem jött létre olyan konstrukció, amely természetes körülmények között versenyképes volna a "vad" típussal és ha ez egyáltalán lehetséges, előfordulásának valószínűsége elhanyagolhatóan csekély. Ez a tény önmagában - természetesen nem jelenti a gyakorlati alkalmazások korlátját, hiszen az ember által ne-

Ujonnan felismert növénykórokozók: a viroidok

1. Történeti előzmények

1922-ben Martin beszámolt arról, hogy Dél Jersey államban /U.S.A./ egy olyan burgonyabetegségekre lettek figyelmesek, amelynek jellegzetes tünete a gumók orsósdása /1.ábra/. Szabadszföldi,



1.ábra. Egészséges /bal/ és gumóorsósdással fertőzött /jobb/ burgonyanövények gumói /Diener, 1979/

és a burgonya vegetatív szaporítása során tett megfigyelések alapján Schultz és Folsom /1923/ arra a következtetésre jutott, hogy a betegség fertőző. Ezt a megfigyelést fenti szerzők a feltételezett kórokozó sikeres mechanikai átvitelével /egészséges növények kézzel kissé megmorzsolts leveleinek bekenése beteg növény leveleiből kipréselt nedvvel/ is alátámasztották. Ennek ellenére a gumóorsósdásban szenvedő burgonyanövényekből mikroszkóposan nem sikerült kórokozót /gomba, baktérium/ kimutatni.

Mivel a 20.század elején a növénykórban minden, mikroszkóposan nem detektálható és klasszikus mikrobiológiai módszerekkel nem azonosítható kórokozót "virus"-nak neveztek, a burgonya gumóorsósdás ágensét is virusnak tartották /potato spindle tuber virus, PSTV/.

Időközben, az elektronmikroszkópos, ultracentrifugálásos, szerológiai és biokémiai technikák fejlődésével a növény-virusoknak egyre több közös tulajdonságát ismerték fel. A részletesen analizált növény-virusok elektronmikroszkópban látható, pálcika vagy gömbalaku, több millió daltonos molekulatömegű ribonukleoprotein részecskéknek bizonyultak. Módszertanilag ez azt jelenti, hogy a növény-virusok

- /i/ nagyságuk alapján elektronmikroszkópban láthatóak,
- /ii/ nagyságuk alapján ultracentrifugálással kiülepíthetők /tisztíthatók/,
- /iii/ fehérjetartalmuk alapján antigéntermészetűek és
- /iv/ nukleoprotein voltak alapján a fehérjékre alkalmazott módszerekkel tisztíthatók, valamint fehérje és nukleinsav-

kémiai módszerek kombinálásával analizálhatók.

Érdekes módon, valahányszor megkísérelték a PSTV-t a fenti módszerek valamelyikével a "klasszikus" növény-virusokra sikerrel alkalmazott körülmények között "megfogni", az kudarccal végződött, vagy mások által később nem reprodukálható eredményekhez vezetett. A nehézségek kulcsa az volt, hogy nem sikerült a PSTV-t ülepítés-sel vagy fehérjekicsapással tisztítani. Mindezek ellenére a PSTV-t még egy 1957-ben megjelent kézikönyv is jobb híjján virusként kezeli /Smith, 1957/. Hozzá kell ehhez tenni azt, hogy 1962-ig a PSTV gazdanövényeként csak a burgonyát ismerték. Köztudottan a burgonya vegetatív szaporítási módja, lassu növekedése, tehát nehéz kezelhetősége miatt igen alkalmatlan laboratóriumi teszt-növény.

Az "áttörés" bevezető, de döntő mozzanatára a 60-as évek elején került sor, amikor is Raymer és mtsai /Raymer és O'Brien, 1962; Raymer et al., 1964/ kimutatták, hogy a PSTV az üvegházi körülmények között kitűnően kezelhető paradicsomra átvihető, és azon jellegzetes tüneteket /törpenövés, levelek csavarodása és hólyagosodása, epinasztia/ ad /2.ábra/.



2.ábra. Egészséges /bal/ és PSTV-vel fertőzött /jobb/ paradicsom növények.

Ezáltal egyrészt lehetőség nyílt nagytömegű, standardizált fertőzött növényi anyag előállítására, ami a kórokozó biokémiai természetének vizsgálatát könnyítette meg, másrészt az ágens infektivitásának tesztelése is rövidebb időt vett igénybe és biztonságosabbá vált.

A döntő "áttörés" 1967-ben következett be. Diener és Raymer /1967/ végtelenül körültekintő, korrekt kísérletekkel logikusan végigvizsgálta a PSTV /itt még ők is "virus"-nak nevezik az ágenst/ lehetséges természetét. Kimutat-

/i/ PSTV-vel fertőzött növények leveleiből készített présnedvnek olyan körülmények között végzett ultracentrifugálása után, amelyek között a konvencionális növényvirusok, sőt még az azokból kivont intakt RNS-ek is kiülepednek /40.000 rpm, 4 óra/, a PSTV

a felülszóban marad /infektivitás tesztek/.

/ii/ A PSTV higithatóság alapján mért specifikus infektivitása a présnedv etanolos kicsapása és fenollal való kirázása után nem változik.

/iii/ A PSTV kimerítő ribonukleázos kezelés után elveszíti fertőzőképességét, de deoxiribonukleázos kezelés után nem.

/iv/ Céziumklorid és céziumsulfát grádiensekben egyensúlyi sűrűség-grádiens centrifugálás során a PSTV úgy viselkedik, mint az RNS és nem úgy, mint a DNS.

/v/ Metilált szérum albumin oszlopon végzett kromatografálás esetén a PSTV a standardként használt kettős szálu DNS-sel és nem az egyszálu RNS-sel együtt eluálódik.

A fenti eredmények alapján a szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a burgonya gumóorsósodását okozó "virus" kis molekulásulyu szabad RNS molekula, amely valószínűleg nagy rendezettségi fokú /legalábbis részben kettősszálu/, DNS-szerű szekundér strukturával rendelkezik. Ezáltal érthetővé vált, miért nem lehetett az ágenst a klasszikus növényvirológia módszereivel /ultra-centrifugálás, szerológia, fehérjekémiai módszerek/ "megfogni".

Ezekután a sensu stricto biokémiai módszerek rohamos fejlődése vitt közelebb az enigmatikus "virus" molekuláris természetének megismeréséhez. Elsősorban a poliakrilamid gél elektroforézis /PAGE/ technika /később preparatív irányba is történő/ tökéletesítése tette lehetővé a PSTV most már kémiailag is megbízhatóan tiszta állapotban való előállítását és ezen keresztül molekuláris analizisét.

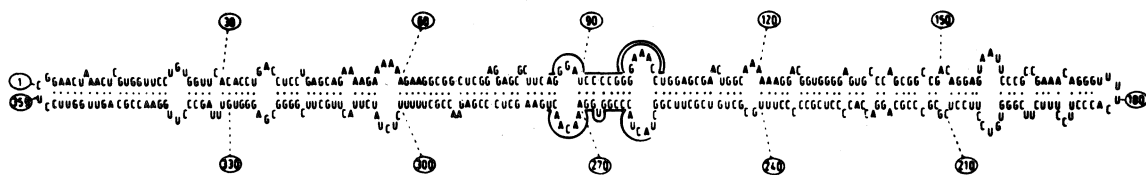
Diener 1971-ben /Diener, 1971a/ számos kontroll beiktatásával végérvényesen bizonyította, hogy a PSTV kis molekulásulyu / 1.1×10^5 / RNS, amely a gazdanövényben önálló replikációra képes, és javasolta, hogy a PSTV és a hozzá hasonló kórokozók kapják a "viroid" nevet, mivel megbetegítőképességük és szubmikroszkópos méretük alapján a vírusokhoz állnak közel, de azoknál jóval kisebbek, RNS-ük nincs proteinhüvellyel védve és méretük miatt információtartalmuk oly csekély, hogy replikációjukhoz teljes mértékben a gazdanövény enzimszisztémájára kell, hogy utalva legyenek, vagy általánosabban fogalmazva, mRNS aktivitásuk feltehetően nincs. Az addig megismert, egyszálu RNS-t tartalmazó növény-vírusokról tudott volt, hogy rendelkeznek mRNS aktivitással.

A továbbiakban, eltérve most már a kronológikus sorrendtől,

dióhéjban ismertetjük a viroidok szerkezetének, sejten belüli lokalizációjának és funkciójának vizsgálata során eddig elért eredményeket, és végül rámutatunk arra, hogy milyen kapcsolatban van a viroidkutatás a biotechnológiával.

2. A viroidok szerkezete

Ma már a "klasszikus" és minden szempontból legalaposabban vizsgált PSTV /itt már a V viroidnak olvasandó/ mellett további 10 viroid "faj"-t irtak le /1. táblázat/. Valamennyi 5, eddig megszekvenált viroidra jellemző, hogy specifikus, csak a "faj"-ra jellemző nukleotid-szekvenciával rendelkező, kovalensen zárt egyfonalas cirkuláris RNS molekulák, amelyek nagyfokú intramolekuláris bázispárosodás révén azonos jellegű és termodinamikai állandókat mutató szekundér strukturából eredő DNS-szerű pálcika-alakot öltenek /lásd a példaként bemutatott PSTV-t a 3. ábrán és nagy tisztaságu PSTV-preparátumok elektronmikroszkópos képét pl. Gross és Riesner /1980/-nél/.



3. ábra. A PSTV szekundér szerkezete

A PSTV, CSV és CEV nagyfokú szekvencia-homológiát mutat. Ezeknek, valamint a CCCV-nek a 3. ábrán vastag vonallal jelölt centrális régiójában egy erősen konzervált közös szekvencia található. Ez a szekvencia teljes egészében az ASBV-ben nincs meg, kivéve egy, a 3. ábrán kettős vonallal jelölt GAAACC hexanukleotida szakaszt, amely tehát az összes eddig megszekvenált viroidokban a molekula középső részén helyezkedik el, és valamennyiben közös. Funkcionális jelentősége nem ismert.

Szerkezeti sajátásaik alapján a viroidoknak általános biológiai jelentőségük van: ezek a legkisebb kórokozók, amelyeknek teljes primér és szekundér szerkezete ismert. Emiatt par excellence objektumok a struktúra és funkció kapcsolatának vizsgálatára.

1. táblázat*

Az eddig leirt viroidok

Viroid	Nukleotida egységek száma	Primér és szekundér strukturát közlő irodalom
1. Avocado sunblotch viroid /ASBV/	247	Symons /1981/
2. Burdock stunt viroid /BSV/	-	-
3. Chrysanthemum chlorotic mottle viroid /CCMV/	-	-
4. Chrysanthemum stunt viroid /CSV/	354 /angliai izolátum/	Gross et al. /1982/
5. Citrus exocortis viroid /CEV/	371	Gross et al. /1982/ Visvader et al. /1982/
6. Coconut cadang-cadang viroid /CCCV/	246 /RNA 1 gyors** komponens/ 287 /RNA 1 lassu** 492 /RNA 2 gyors** 574 /RNA 2 lassu**	" / Haseloff et al. /1982/ " / " /
7. Cucumber pale fruit viroid /CPFV/	-	-
8. Hop stunt viroid /HSV/	-	-
9. Potato spindle tuber viroid /PSTV/	359	Gross et al. /1978/
10. Tomato bunchy top viroid /TBTV/	-	-
11. Tomato "planta macho" viroid /TPMV/	-	-

*Sänger /1982/ után

**PAGE során tapasztalt vándorlási sebességük alapján elválasztott komponensek

3. A viroidok sejten belüli lokalizációja

Eddig a PSTV-ről és a CEV-ről mutatták ki, hogy a sejtmagban lokalizáltak /Diener, 1971b; Semancik et al., 1976/ és a PSTV-ről inkorporációs kísérletekkel, hogy nagy valószínűséggel ott is replikálódik /Takahashi és Diener, 1975/. A CEV Gynura aurantiaca-ból

nyert részlegesen tisztított sejtmagpreparátumból készített in vitro rendszerben szintetizálódik /Flores és Semancik, 1982/. Legújabb, és nagyon megbízhatóknak tűnő eredmények alapján /Schumacher et al., 1983/ a PSTV a paradicsomsejt nukleoluszaiban halmozódik fel /a replikáció helye ettől még lehet a nukleoplazma, sőt valószínűleg az is!/.

4. A viroidok funkciója

4.1. Replikáció

4.1.1. Intermediérek

Az eddig vizsgált viroidok replikációja első megközelítésben formailag az RNS-virusokéhoz hasonló: először minusz-szál szintetizálódik, amelyről, mint templátról szintetizálódik a plusz-szál. PSTV-specifikus minusz-szálak in vivo létezését molekuláris hibridizációs kísérletekkel mutatták ki /Grill és Semancik, 1978; Grill et al., 1980; Owens és Cress, 1980/. Későbbi, részletesebb analízisek eredményei arra engedtek következtetni, hogy ezek a komplemter szálak multimérek /Rohde és Sängner, 1981; Branch et al., 1981/. PSTV-specifikus multimer minusz-RNS szálakból és monomer plusz-szálakból álló replikatív intermediereket PSTV-vel fertőzött paradicsomnövény leveleiből újabban sikerült is izolálni /Owens és Diener, 1982/. Ezek alapján a viroid replikációra a fenti szerzők "rolling circle" modellt javasolnak.

4.1.2. Enzimek

A viroid replikáció enzimatiskus vonatkozásai még tisztázatlanok.

In vitro a PSTV-t az alábbi enzimek fogadják el templátként: Q β replikáz /Owens és Diener, 1977/, növényi eredetű DNS-dependens RNS polimeráz II /Rackwitz et al., 1981/, növényi eredetű RNS-dependens RNS polimeráz /Boege et al., 1982/, bakteriális eredetű DNS-dependens DNS polimeráz I /Rohde et al., 1982/, és bakteriális eredetű RNS polimeráz /Rohde et al., 1982/. A DNS-dependens enzimek működése a viroid-RNS-sel, mint templáttal, ez utóbbi DNS-szerű szekunder strukturájával függhet össze.

In vivo a CPFV replikációját paradicsom protoplasztokban /sejtfaluktól enzimes emésztéssel megfosztott és tápoldatban továbbélő sejtek/ az α -amanitin specifikusan olyan koncentrációban

gátolja, amelyben a DNS-dependens RNS polimeráz II aktivitását is gátolja /Mühlbach és Sängér, 1979/. Részlegesen tisztított sejtmag-preparátumban a CEV szintézisét α -amanitin gátolja /Flores és Semancik, 1982/.

Viroid cirkularizálódást katalizáló ligázt buzacsirából és Chlamydomonasból izoláltak /Kikuchi et al., 1982/. Ilyen enzim in vivo részvétele a viroid-replikációban nem bizonyított, de egyáltalán nincs kizárva.

4.2. Patogenicitás

Arról, hogy a viroidok miként okozzák a komoly termésvesztésekkel /Calavan et al., 1968; Singh et al., 1971; Randles, 1975/járó betegségtüneteket, gyakorlatilag semmit sem tudunk. Viroid-fertőzött növények törpenövésük, az internodiumok megrövidülése és gyökere-sedési képességük elmaradása /Flores és Rodriguez, 1981/ alapján hormonanyagcsere-zavarokra utaló jeleket mutatnak /cf. Semancik, 1979/.

Molekuláris biológiai szempontból a viroid-hatásmechanizmus kiderítésének egyik megközelítési módja azt megvizsgálni, hogy a viroidok a sejt melyik természetes RNS komponensével mutatnak legnagyobbfokú hasonlóságot, és feltételezni, hogy a gazdanövény génexpressziójának abba a lépésébe zavarnak bele a transzkripció vagy transláció szintjén, amelynél a hozzájuk leginkább hasonlatos RNS-fajta döntő szerepet játszik. Ha ezt tesszük, az alábbi kritériumok alapján a viroidok az U-típusú kis sejtmagi RNS-ekhez* /small nuclear RNA, snRNA/ állnak formálisan a legközelebb.

/i/ Mindkét RNS fajtát eddig csak eukariótákból mutatták ki. /Növényekből snRNA-kat még nem izoláltak, de előfordulásukra két különböző kísérleti megközelítés eredményeiből /Sun et al., 1981; Jensen et al., 1981; Blin et al., 1983/ is következtetni lehet./

/ii/ Mindkét RNS fajta kis egyszálú RNS molekula, amely az snRNA-k esetében 107-214 /cf. Busch et al., 1982/, a viroidok esetében 246-371 /l. 1.táblázat/ nukleotida egységből áll. /Az U-típusú snRNA-k minor nukleozidokat tartalmaznak és 5' végükön cap szerkezet van, szemben a viroidokkal./

*Hat U-típusú snRNA-t ismerünk /U1-U6/, amelyek mindegyikének teljes nukleotida szekvenciája ismert /cf. Busch et al., 1982/.

/iii/ Mindkét RNS fajta a sejtmagban lokalizált és minden jel szerint ott is szintetizálódik /cf. Busch et al., 1982; Diener, 1971b; Takahashi és Diener, 1975; Semancik et al., 1976/.

/iv/ Mindkét RNS fajta szintézisét /replikációját/ in vivo az α -amanitinnel való gátolhatóság mértéke alapján DNS-dependens RNS polimeráz II-nek azonosított enzim katalizálja /Frederiksen et al., 1978; Gram-Jensen et al., 1979; Mühlbach és Sängner, 1979/.

/v/ Megfelelő in vitro rendszerben egyik RNS fajtának sincs sem tRNS, sem mRNS aktivitása /Hellung-Larsen, 1977; Davies et al., 1974; Hall et al., 1974; Semancik et al., 1977/. /A PSTV molekulában nincs is AUG iniciációs kodon, komplementerében sincs és PSTV-vel fertőzött sejtszuspenziós kulturákból, bár kevéssé impresszív dokumentált egy- és kétdimenziós PAGE alapján, specifikus /egészséges sejtekből hiányzó/ polipeptidet nem sikerült kimutatni /Zelcer et al., 1981./

/vi/ Minden eddig megszekvenált viroid tartalmaz olyan szakaszt, amely parciális szekvencia-homológiát mutat az U1 snRNA 5' végével /Diener, 1981; Gross et al., 1982; Haseloff et al., 1982; Kiss és Solymosy, 1982/. /Az U1 snRNA 5' vége az intron-transzkriptumok donor és akceptor szekvenciáival való komplementaritás /Roberts, 1980/ és néhány indirekt kísérleti bizonyíték /Lerner et al. 1980/ alapján a pre-mRNS vágásában /splicing/ játszhat szerepet /cf. Knowler és Wilks, 1980./

/vii/ Az ASBV és az U5 snRNA között kisfokú, a PSTV, CEV, CSV és az U3 snRNA között pedig nagyfokú szekvencia homológia van, amely kolineárisan elhelyezkedő szakaszok formájában jelentkezik /Kiss és Solymosy, 1982; Solymosy és Kiss, 1983/. Az U3 snRNA-val homológ régiók a PSTV, CEV és CSV szekundér strukturájában feltűnően szabályszerűen elrendezett szakaszokat alkotnak /Solymosy és Kiss, 1983/. PSTV és U3 snRNA között lévő szoros kapcsolat a primer strukturát illetően statisztikailag szignifikáns /Kiss et al., 1983/.

A fenti kritériumok alapján nem kizárt az, hogy a viroidok a gazdanövény génexpressziójával egy olyan lépésben interferálnak, amelyben az U snRNA-k valamelyikének szerepe van. Figyelemreméltó, hogy az U3 snRNA az egyetlen U-típusú snRNA, amely a nukleoluszban halmozódik fel /cf. Busch et al., 1982/, csakugy, mint a PSTV /Schumacher et al., 1983/, és amelyet - szemben a többi öt U-típusú snRNA-val - eddig nem találtak ribonukleoprotein partikulumban

/snRNP/, — csakugy, mint a PSTV-t.

5. Viroidok és a biotechnológia

A IUPAC /International Union of Pure and Applied Chemists/ meghatározása szerint "Biotechnológia a biokémia, mikrobiológia és műszaki tudományok olyan integrált alkalmazása, amelynek célja a mikroorganizmusok, tenyésztett szöveti sejtek, vagy azok valamely részének technológiai felhasználása".

Kérdés, hogy a viroidkutatásban és elsősorban a viroidbetegségekkel szembeni védekezésben hol használható fel a biotechnológia.

Mint ahogy az eddig mondottakból kitűnik, a viroidok olyan szorosán integráltak a gazdanövény transzkripciós rendszerébe, hogy jelenleg ellenük, mint autonóm patogén ágensek ellen, eddigi ismereteink alapján, sem biotechnológiával, sem anélkül, védekezni nem tudunk. Hasonló a helyzet a vírusokkal is, azzal a különbséggel, hogy azok antigén természetű fehérjekomponense legalább specifikus szerológiai detektálási /diagnosztizálási/ módszerek rutinszerű alkalmazását teszi lehetővé. Ilyen eljárásokat például egészséges vetőburgonya szelektálására széleskörűen alkalmaznak is. A viroidoknak egyetlen komponense az RNS. Ha tehát specifikus diagnosztizálási módszerhez akarunk jutni, akkor a viroid-RNS specificitását, amely itt a nukleotidák meghatározott sorrendjét jelenti, kell kiaknázni. Nos, ebben segít a biotechnológia.

Az eljárás lényege viroid-specifikus nukleotida-szekvencia nagytömegű előállítás /"klónozása"/ a génebézészet módszereivel /rekombinációs DNS technika és molekuláris hibridizálás/ és a "klónok" technológiai felhasználása a gyakorlatban. Elvi menete a PSTV példáján bemutatva a következő:

A PSTV-ről először reverz transzkriptázzal komplementer DNS szálat /cDNA/ készítenek. Erről DNS polimeráz I segítségével kettős szálú cDNA-t szintetizálnak, amelyet a génebézészet módszereivel valamilyen vektorba /plazmid vagy bakteriofág/ építenek be. A vektort baktériumsejtekbe juttatják, a baktériumot felszaporítják, végül megfelelő módszerekkel a viroid-specifikus cDNA-t, most már preparatív nagyságrendben, a baktériumokkal együtt felszaporodott vektorokból kivágják. Ez az amplifikációs lépés radioaktivitással erősen jelölt prekurzorok jelenlétében történik, tehát a viroid-specifikus cDNA /próba/ jelölt lesz. A tesztelés során a burgonyagumó csirájából nyert prés-

nedvet derítik, majd nitrocellulóz membránra cseppentik. Ezen a nukleinsavak adszorbeálódnak. Egy ilyen nitrocellulóz membránt a radioaktív próbával összehozva, azok a foltok, amelyekre PSTV-fertőzött gumóból származó présnedv adszorbeálódott, a próba és a PSTV komplementer nukleotidszekvenciája miatt létrejött molekuláris hibridizáció következtében radioaktívak lesznek. Ez autoradiográfiával detektálható.

Viroid kimutatásra alkalmazható cDNA próbát előállítottak már PSTV-vel /Owens, 1978/, CSV-vel /Palukaitis és Symons, 1978/ és ASBV-vel /Palukaitis et al., 1981/ szemben, a PSTV-t klónozták /Owens és Cress, 1980; van Wezenbeek et al., 1982/ és leírták a fentebb ismertetett módszert PSTV rutinszerű, gyors kimutatására vetőmagburgonya gumócsiráiból /Owens és Diener, 1981/.

Irodalom

SOLYMOSY FERENC

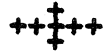
- Blin, N., Weber, T., Alonso, A. /1983/: Cross-reaction of snRNA and an Alu I-like sequence from rat with DNAs from different eucaryotic species. *Nucl. Acids Res.*, 11: 1375-1388.
- Boege, F., Rohde, W., Sängner, H.L. /1982/: In vitro transcription of viroid RNA into full-length copies by RNA-dependent RNA polymerase from healthy tomato leaf tissue. *Biosci. Rep.* 2: 185-194.
- Branch, A.D., Robertson, H.D., Dickson, E. /1981/: Longer-than-unit-length viroid minus strands are present in RNA from infected plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78: 6381-6385.
- Busch, H., Reddy, R., Rothblum, L., Choi, Y.C. /1982/: SnRNAs, snRNPs, and RNA processing. *Ann. Rev. Biochem.*, 51: 617-654.
- Calavan, E.C., Weathers, L.G., Christiansen, D.W. /1968/: Effect of exocortis on production and growth of Valencia orange trees on trifoliolate orange rootstock. In: Childs, J.F.L. /ed./ *Proc. 4th Conf. Int. Org. Citrus Virologists*. Univ. Florida Press, Gainesville.
- Davies, J.W., Kaesberg, P., Diener, T.O. /1974/: Potato spindle tuber viroid. XII. An investigation of viroid RNA as a messenger for protein synthesis. *Virology*, 61: 281-286.
- Diener, T.O. /1971a/: Potato spindle tuber "virus". IV. A replicating, low molecular weight RNA. *Virology*, 45: 411-428.
- Diener, T.O. /1971b/: Potato spindle tuber virus: A plant virus with properties of a free nucleic acid. III. Subcellular location of PSTV-RNA and the question of whether virions exist in extracts in situ. *Virology*, 43: 75-89.
- Diener, T.O. /1979/: "Viroids and Viroid Diseases". John Wiley and Sons, New York.
- Diener, T.O. /1981/ Are viroids escaped introns? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78: 5014-5015.
- Diener, T.O., Raymer, W.B. /1967/: Potato spindle tuber virus: A plant virus with properties of a free nucleic acid. *Science*, 158: 378-381.

- Flores, R., Rodriguez, J.L. /1981/: Altered pattern of root-formation on cuttings of *Gynura aurantiaca* infected by citrus exocortis viroid. *Phytopathology*, 71: 964-966.
- Flores, R., Semancik, J.S. /1982/: Properties of a cell-free system for synthesis of citrus exocortis viroid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79: 6285-6288.
- Frederiksen, S., Hellung-Larsen, P., Gram-Jensen, E. /1978/: The differential inhibitory effect of α -amanitin on the synthesis of low molecular weight RNA components in BHK cells. *FEBS Lett.*, 87: 227-231.
- Gram-Jensen, E., Hellung-Larsen, P., Frederiksen, S. /1979/: Synthesis of low molecular weight RNA components A, C and D by polymerase II in α -amanitin-resistant hamster cells. *Nucleic Acids Res.*, 6: 321-330.
- Grill, L.K., Semancik, J.S. /1978/: RNA sequences complementary to citrus exocortis viroid in nucleic acid preparations from *Gynura aurantiaca*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75: 896-900.
- Grill, L.K., Negruk, V.I., Semancik, J.S. /1980/: Properties of the complementary RNA sequence associated with infection by the citrus exocortis viroid. *Virology*, 107: 24-33.
- Gross, H.J., Riesner, D. /1980/: Viroids: A class of subviral pathogens. *Angew. Chemie*, 19: 231-243.
- Gross, H.J., Domdey, H., Lossow, C., Jank, P., Raba, M., Alberty, H., Sanger, H.L. /1978/: Nucleotide sequence and secondary structure of potato spindle tuber viroid. *Nature*, 273: 203-208.
- Gross, H.J., Krupp, G., Domdey, H., Raba, M., Alberty, H., Lossow, C.H., Ramm, K., Sanger, H.L. /1982/: Nucleotide sequence and secondary structure of citrus exocortis and chrysanthemum stunt viroid. *Eur. J. Biochem.*, 121: 249-257.
- Hall, T.C., Wepprich, R.K., Davies, J.W., Weathers, L.G., Semancik, J.S. /1974/: Functional distinctions between the ribonucleic acids from citrus exocortis viroid and plant viruses. Cell-free translation and aminoacylation reactions. *Virology*, 61: 486-492.
- Haseloff, J., Symons, R.H. /1981/: Chrysanthemum stunt viroid - primary sequence and secondary structure. *Nucl. Acids Res.*, 9: 2741-2752.
- Haseloff, J., Mohamed, N.A., Symons, R.H. /1982/: Viroid RNAs of the cadang-cadang disease of coconuts. *Nature*, 299: 316-322.
- Hellung-Larsen, P. /1977/: "Low Molecular Weight RNA Components in Eukaryotic Cells." FADL'S Forlag, Copenhagen.
- Jensen, E.O., Poludan, K., Hyldig-Nielsen, J.J., Jorgensen, P., Marcker, K.A. /1981/: The structure of a chromosomal leg-haemoglobin gene from soybean. *Nature*, 291: 677-679.
- Kikuchi, Y., Tyc, K., Filipowicz, W., Sanger, H.L., Gross, H.J. /1982/: Circularization of linear viroid RNA via 2'-phosphomonoester, 3',5'-phosphodiester bonds by a novel type of RNA ligase from wheat germ and *Chlamydomonas*. *Nucl. Acids Res.*, 10: 7521-7529.

- Kiss, T., Solymosy, F. /1982/: Sequence homologies between a viroid and a small nuclear RNA /snRNA/ species of mammalian origin. *FEBS Lett.* 144: 318-320.
- Kiss, T., Pósfai, J., Solymosy, F. /1983/: Sequence homology between potato spindle tuber viroid and U3B snRNA. *FEBS Lett.* /közlésre benyújtva/.
- Knowler, J.T., Wilks, A.F. /1980/: Ribonucleoprotein particles and the maturation of eukaryote mRNA. *Trends Biochem.Sci.*, 5: 268-271.
- Lerner, M.R., Boyle, J.A., Mount, S.M., Wolin, S.L., Steitz, J.A. /1980/: Are snRNPs involved in splicing? *Nature*, 283: 220-224.
- Martin, W.H. /1922/: "Spindle tuber", a new potato trouble. *Hints to Potato Growers*, N.J. State Potato Assoc., 3/8: 1-4.
- Mühlbach, H.-P., Sängner, H.L. /1979/: Viroid replication is inhibited by α -amanitin. *Nature*, 278: 185-188.
- Owens, R.A. /1978/: In vitro synthesis and characterization of DNA complementary to potato spindle tuber viroid. *Virology*, 89: 380-387.
- Owens, R.A., Cress, D.E. /1980/: Molecular cloning and characterization of potato spindle tuber viroid cDNA sequences. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, 77: 5302-5306.
- Owens, R.A., Diener, T.O. /1977/: Synthesis of RNA complementary to potato spindle tuber viroid using Q β replicase. *Virology*, 79: 109-120.
- Owens, R.A., Diener, T.O. /1981/: Sensitive and rapid diagnosis of potato spindle tuber viroid disease by nucleic acid hybridization. *Science*, 213: 670-672.
- Owens, R.A., Diener, T.O. /1982/: RNA intermediates in potato spindle tuber viroid replication. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, 79: 113-117.
- Palukaitis, P., Symons, R.H. /1978/: Synthesis and characterization of complementary DNA probe for chrysanthemum stunt viroid. *FEBS Lett.*, 92: 268-272.
- Palukaitis, P., Rakowski, A.G., Alexander, D.M., Symons, R.H. /1981/: Rapid indexing of the sunblotch disease of avocado using a complementary-DNA probe to avocado sunblotch viroid. *Anñ. Appl.Biol.*, 98: 439-449.
- Rackwitz, H.-R., Rohde, W., Sängner, H.L. /1981/: DNA-dependent RNA polymerase II of plant origin transcribes viroid RNA into full-length copies. *Nature*, 291: 297-301.
- Randles, J.W. /1975/: Association of two ribonucleic acid species with cadang-cadang disease of coconut palm. *Phytopathology*, 65: 163-167.
- Raymer, W.B., O'Brien, M.J. /1962/: Transmission of potato spindle tuber virus to tomato. *Am.Potato J.*, 39: 401-408.
- Raymer, W.B., O'Brien, M.J., Merriam, D. /1964/: Tomato as a source of and indicator plant for the potato spindle tuber virus. *Am.Potato J.*, 41: 311-314.
- Roberts, R. /1980/: Small RNAs and splicing. *Nature*, 283: 132-133.

- Rohde, W., Sanger, H.L. /1981/: Detection of complementary RNA intermediates of viroid replication by northern blot hybridization. *Biosci.Rep.*, 1: 327-336.
- Rohde, W., Rackwitz, H.-R., Boege, F., Sanger, H.L. /1982/: Viroid DNA is accepted as a template for in vitro transcription by DNA-dependent DNA polymerase I and RNA polymerase from *Escherichia coli*. *Biosci.Rep.*, 2: 929-939.
- Sanger, H.L. /1982/: Biology, structure, functions and possible origin of viroids. In "Encyclopedia of Plant Physiology". New Series Vol. 14B. Ed. by B.Parthier and D.Boulter. Springer-Verlag, Berlin. pp. 368-454.
- Schultz, E.S., Folsom, D. /1923/: Transmission, variation, and control of certain degeneration diseases of Irish potatoes. *J.Agric. Res.*, 25: 43-117.
- Schumacher, J., Sanger, H.L., Riesner, D. /1983/: Subcellular localization of viroids in highly purified nuclei from tomato leaf tissue. *EMBO J.*, 2: 1549-1555.
- Semancik, J.S. /1979/: Small pathogenic RNA in plants - the viroids. *Ann.Rev.Phytopathol.*, 17: 461-484.
- Semancik, J.S., Conejero, V., Gerhart, J. /1977/: Citrus exocortis viroid: Survey of protein synthesis in *Xenopus laevis* oocytes following addition of viroid RNA. *Virology*, 80: 218-221.
- Semancik, J.S., Tsuruda, D., Zaner, L., Geelen, J.L.M.C., Weathers, J.G. /1976/: Exocortis disease: Subcellular distribution of pathogenic /viroid/ RNA. *Virology*, 69: 669-676.
- Singh, R.P., Finnie, R.E., Bagnall, R.H. /1971/: Losses due to the potato spindle tuber virus. *Am.Potato J.*, 48: 262-267.
- Smith, K.M. /1957/: A Textbook of Plant Virus Diseases. J. and A. Churchill Ltd., London, pp. 652.
- Solyomosy, F., Kiss, T. /1983/: Viroids and snRNAs. In "Subviral Pathogens of Plants and Animals: Viroids and Prions". Ed. by K.Maramorosch and J.J.McKelvey. Academic Press, New York /kozles alatt/.
- Sun, S.M., Slightom, J.L., Hall, T.C. /1981/: Intervening sequences in a plant gene - comparison of the partial sequence of cDNA and genomic DNA of French bean phaseolin. *Nature*, 289: 37-41.
- Symons, R.H. /1981/: Avocado sunblotch viroid - primary sequence and proposed secondary structure. *Nucl.Acids Res.*, 9: 6527-6537.
- Takahashi, T., Diener, T.O. /1975/: Potato spindle tuber viroid. XIV. Replication in nuclei isolated from infected leaves. *Virology*, 64: 106-114.
- Van Wezenbeek, P., Vos, P., van Boom, J., van Kammen, A. /1982/: Molecular cloning and characterization of a complete DNA copy of potato spindle tuber viroid RNA. *Nucleic Acids Res.*, 10: 7947-7957.
- Visvader, J.E., Gould, A.R., Bruening, G.E., Symons, R.H. /1982/: Citrus exocortis viroid - nucleotide sequence and secondary structure of an Australian isolate. *FEBS Lett.*, 137: 288-292.

Zelcer, A., van Adelsberg, J., Leonard, D.A., Zaitlin, M. /1981/: Plant cell suspension cultures sustain long-term replication of potato spindle tuber viroid. Virology, 109: 314-322.



A BIOLÓGIAI NITROGÉNKÖTÉS FOKOZÁSÁNAK ELVI LEHETŐSÉGEI⁺

A nitrogén minden élő szervezet alkotóeleme. Földünk légkörének mintegy 80%-a nitrogén gáz, azonban ezt az élőlények tulnyomó többsége nem képes közvetlenül hasznosítani. A levegő nitrogénjének megkötésére, ammóniává redukálására csak néhány mikroorganizmus képes. Az általuk megkötött nitrogén jelenti az egész élővilág számára az elsődleges nitrogénforrást.

Egyes szervezetek önállóan, mások növényekkel együttélve, szimbiózisban kötnék nitrogént. A szimbiotikus nitrogénkötés során a keletkezett ammóniát a növény közvetlenül fel tudja használni. Cserébe szénforrást, energiát ad a baktériumnak.

Közismert, hogy a világ számos országában a mezőgazdasági termelés egyik fő korlátozó tényezője, hogy kevés a talajban a növények által hasznosítható nitrogén. Ma már ugyan igen elterjedten alkalmaznak nitrogéntartalmú műtrágyákat, azonban ennek előállítása igen energiaigényes. Továbbá, a fokozott műtrágyázás a környezetet is szennyezi. Ezért az utóbbi években előtérbe kerültek a biológiai nitrogénkötés fokozására irányuló kutatások. Ezek a kutatások jó részét molekuláris biológiai, genetikai jellegűek: a nitrogénkötés alapfolyamatainak a megismerésére irányulnak. Ezen keresztül próbálják feltárni azokat a lehetőségeket, amelyek megvalósításával a biológiai nitrogénkötés fokozható.

A Rhizobium baktériumok és a pillangós virágu növények közötti szimbiózis

Kutatócsoportunk Szegeden a jelenleg ismert, leghatékonyabb nitrogénkötési mód molekuláris vizsgálatával foglalkozik. Ez a pillangós virágu növények és a Rhizobium baktériumok együttélése során történő

⁺ A „Biotechnologia ma és holnap” című előadássorozatban /1983.V.23/ elhangzott előadás alapján.

nitrogénkötés. Ugy gondoljuk, hogy ha a biológiai nitrogénkötést fokozni akarjuk, eleve a jelenlegi leghatékonyabb formával kell foglalkoznunk. A mai előadásban elsősorban a Szegeden elért eredményeinket szeretném összefoglalni és rámutatni néhány olyan lehetőségre, amelyen keresztül a biológiai nitrogénkötés fokozható.

Magyarországon a lucerna az egyik legfontosabb pillangós virágú növény. Ez a növény a Rhizobium meliloti baktériummal képes szimbiotikus kapcsolatot kialakítani. Mi ezt a szimbiotikus kapcsolatot vizsgáljuk. Megjegyzendő, hogy más növényfajok más Rhizobium fajokkal képesek csak szimbiotikus kapcsolatot létesíteni, tehát különböző Rhizobium fajoknak különböző a gazdaspecifitása.

Ha a talajban nincs kötött nitrogén, a Rhizobiumok megfertőzik a növények gyökerét és egy bonyolult többlépéses folyamat eredményeképpen gumót képeznek a gyökéren. A gumó erősen differenciálódott növényi szövetekből áll. A gumó belsejében lévő sejtek tartalmazzák a nitrogénkötésre módosult baktériumokat, a bakteroidokat. A bakteroidok redukálják a molekuláris nitrogént ammóniává a nitrogenáz enzim segítségével és adják át a növénynek. A gumó pedig optimális környezetet biztosít a növénynek: pl. a nitrogénkötéshez sok oxigén kell, ugyanakkor az oxigén károsítja a nitrogenázt. Mindezt a növény úgy oldja meg, hogy egy hemoglobinhoz hasonló vegyület szállítja az oxigént az enzim számára úgy, hogy az enzim nem károsul. Mindezekből látható, hogy a szimbiózisos nitrogénkötés összetett folyamatok eredménye, amelyben mind a növény, mind a baktérium közreműködik. /A nitrogénkötés molekuláris biológiai alapjaival a "Biokémia" c. folyóiratban korábban már foglalkoztunk (1)/.

Mi ennek az együttélésnek a létrejöttét és a nitrogénkötésnek a szabályozását szeretnénk felderíteni. Megközelítésünk genetikai jellegű: azokat a géneket, információhordozó egységeket keressük, amelyek a szimbiotikus nitrogénkötés egyes lépéseit kontrollálják. Ma már ismert, hogy a nitrogénkötési folyamat génjei /az un. nif gének/ a baktériumban vannak, de a szimbiózis létrejöttét részben a baktérium, részben a növény génjei határozzák meg. A szimbiotikus nitrogénkötés megváltoztatását, illetve kiterjesztését elvben tehát két uton végezhetjük: vagy a baktérium vagy a növény genetikai állományának megváltoztatásával. Amennyiben megtaláljuk ezeket a géneket, tanulmányozhatjuk működésüket, szabályozásukat. Ennek ismeretében a géneket tartalmazó DNS darabokat különböző technikák, pl. a génszélesztés módszereivel beépíthetjük más, ma még nitrogénkötésre képtelen szervezetekbe és így új nitrogénkötésre képes szervezeteket hozhatunk létre; illetve a szabályozás ismeretében úgy változtathatjuk meg a géneket, hogy a szimbiózis során több ammónia keletkezzen.

Hogyan találhatjuk meg a szimbiotikus nitrogénkötési géneket? Köztudott, hogy a gének a DNS-ben kódoltak. Azonban nekünk több tizezerből kell kiválasztani a számunkra érdekes néhányat. A genetikusok fő megközelítési módja az, hogy ezeket a géneket mutációval elrontjuk /így a géneket mintegy megjelöltük/. Másrészt genetikai kicserélődést kell az élőlények között biztosítani. Ha vannak nitrogénkötésben hibás mutánsok és a géneket át tudjuk vinni egyik szervezetből a másikba, akkor a számunkra érdekes géneket a DNS óriásmolekulán könnyebben megtalálhatjuk.

A Rhizobium szimbiotikus nitrogénkötési génjei

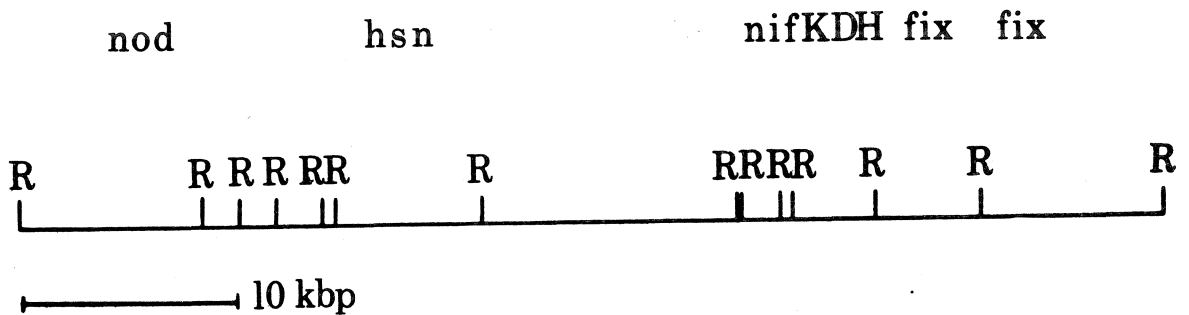
Kutatásaink egyik fő eredménye, hogy a fentebb említett feltételeket a Rhizobium meliloti baktériumra megvalósítottuk. Ma már rendelkezünk gumókötésre /nodulációra/ képtelen /Nod⁻/ és nitrogénfixációra képtelen /Fix⁻/ mutánsokkal /2/. Továbbá megszerkesztettük a Rhizobium kromoszóma térképét /3/, és ezen a térképen lokalizáltunk néhány fixációs gént /2/.

E munka során egy érdekes megállapítást tettünk: a Rhizobium meliloti a kromoszómán kívül eddig nem ismert nagyméretű DNS molekulákat, ún. plazmidokat is tartalmaz. Kimutattuk, hogy egy óriási plazmid hordozza a szimbiotikus nitrogénkötési gének döntő többségét /4/. Ez egyébként az eddig ismert legnagyobb méretű plazmid. Ezt a megaplazmidot néhány más baktériumfajba is át tudtuk vinni egy egyszerű genetikai módszerrel /5/. Ezek a baktériumfajok, ha a plazmidot tartalmazták - képessé váltak a lucernával szimbiotikus kapcsolat létrehozására. Pl. az Agrobacterium nem indukál gumót a lucernán, de ha bevisszük az Agrobacteriumba a Rhizobium plazmidját, akkor erre képessé válik. Ugyanakkor - feltehetően bizonyos fixációs gének hiányában - nitrogénkötés nincs /6/.

A szimbiotikus nitrogénkötési gének a plazmid egy rövid szakaszán csoportosulnak /7, 8/. Génebézészeti módszerekkel izoláltuk ezt a szakaszt és több érdekes gén elrendeződését és szerkezetét is megállapítottuk /9/ /1. ábra/.

Igy pl. a nitrogénkötést végző nitrogenáz génjeit izoláltuk és a régió finomszerkezetét, a DNS-t felépítő építőelemek, a nukleotidok sorrendjét is meghatároztuk /10/. Ebből a kódolt fehérje, a nitrogenáz elsődleges szerkezete egyértelműen felírható volt.

Ezekkel a módszerekkel más szimbiotikus gének szerkezetét is tanulmányoztuk. Legujabban sikerült megállapítani a gumóképzésért felelős gének /nod gének/ finomszerkezetét. Kiderült, hogy a gének egy kis csoportja /hsn gének/ felelős a növény gazdasziszteitására. Ennek kicserélésével a gazdasziszteitására megváltoztatható /9/.



1. ábra A Rhizobium meliloti megaplazmidján a szimbiotikus nitrogénkötési géneket hordozó szakasz fizikai térképe

A kb. 800 kbp méretű megaplazmidon a gumóképzést kódoló és nitrogénkötési gének egy 50 kbp-nyi szakaszon csoportosulnak. nod: nodulációs gének; hsn: gazdasziszteitást meghatározó gének; nifK,D,H: a nitrogénáz 3 polipeptidjét kódoló 3 gén; fix: a nitrogénfixációhoz szükséges, pontosan nem ismert funkciójú gének. Mindegyik géncsoport több génből áll /4, 9, 10/. Az egyszerűsített ábrán csak a EcoRI /R/ hasítóhelyeket tüntettük fel.

A nitrogénkötés fokozásának lehetőségei a Rhizobium génjeinek manipulációjával

Végeredményben tehát ismerjük a nitrogénkötési gének jó részét, ezeket át tudjuk vinni egyik baktériumból a másikba. Elvben tehát a nitrogénkötés szempontjából hasznos tulajdonságok egy hibrid Rhizobiumban egyesíthetők. Pl. az egyik Rhizobium törzs több nitrogént köt meg, a másik hatékonyabb a szimbiózis létrehozásában, a harmadik takarékoskodik a felhasznált energiával, a negyedik jobban alkalmazkodik a speciális talajviszonyokhoz, stb. Ha ismerjük ezen tulajdonságokat kódoló géneket, ezeket kivághatjuk az egyes törzsek-ből és elvben egy "szuper" Rhizobium törzs hozható létre.

Más lehetőség a nitrogénkötési vagy szimbiotikus gének megváltoztatása mutációval, és hatékonyabb mutánsok kiválogatása. Laboratóriumi körülmények között hatékonyabban nitrogénkötő mutánsokat már izoláltunk, de ezek szántóföldi alkalmazhatóságának bizonyítása

hosszantartó munkát igényel. Ezeknek a vizsgálatát több mezőgazdasági kutatóintézettel együttműködve, az OMFB támogatásával végezzük. Remélhetően a lucernaföldek beoltására alkalmas, az eddigi oltóanyag-nál hatékonyabb Rhizobium oltóanyag előállításához vezetnek ezek a kutatások.

Az alapkutatások során nyert ismeretek azonban nemcsak a Rhizobium meliloti - lucerna társulás javítására alkalmazhatók. Ugy tűnik, hogy más Rhizobium - növény társulások genetikai kontrollja igen hasonló a R.meliloti - lucerna társuláshoz. Így, ha a mezőgazdasági igény úgy kívánja, más Rhizobium fajok is javíthatók ezekkel a genetikai módszerekkel. Továbbá a gumókötési gének átvitelével elő lehet állítani olyan Rhizobium törzseket, amelyek több növényvel képesek kapcsolatot létrehozni. Ezek a törzsek még eléggé instabilak, de a későbbiekben remélhetően stabilizálhatóak.

A növények génállományának megváltoztatása

Eddig a baktériumban lévő génekkel foglalkoztam. Ma már lehetőség van arra is, hogy a lucernából izoláljuk a szimbiózist kódoló növényi géneket. Az elmúlt évben kezdtük meg ezirányú kutatásainkat.

A növényi géntechnológia már odáig fejlődött, hogy növényekbe idegen géneket beültethetünk úgy, hogy azok fennmaradnak az utódokban is. Az 1983-as évnek első nagy tudományos szenzációja volt, hogy egyszerre több nyugati laboratórium bejelentette, hogy sikerült bakteriális géneket beültetni a növényekbe úgy, hogy a gének működtek /11/. Az első ilyen beültetett gének különböző antibiotikumokkal szemben tették rezisztenssé a növényeket. Hasonlóképpen, idegen növényi gének is beültethetők bizonyos növényekbe úgy, hogy a gének öröklődnek, és működnek is az utódokban. A szükséges technikákkal a szegedi intézet rendelkezik /együttműködve a kölni Max-Planck Intézettel, amely élenjáró ezekben a technikákban/. Így az új technikák közvetlenül átvehetőek.

Visszatérve a nitrogénkötés fokozásának elvi lehetőségeihez: felmerül annak a lehetősége, hogy növényekbe szimbiotikus géneket is beültessünk, úgy, hogy a gének fennmaradjanak az utódokban. Tudjuk, hogy a növényvilágnak csak igen kis része, a pillangósok képesek Rhizobiummal szimbiotikus kapcsolat létrehozására. Elképzelhető, hogy ezekkel a génmanipulációs eljárásokkal újabb és újabb növényfajokat bírjunk rá, hogy Rhizobiumokkal nitrogénkötő kapcsolatot létesítsenek. Ennek megvalósításához azonban optimista becslések szerint is legalább 5-10 év szükséges.

Hosszu távon talán a legvonzóbb lehetőség, ha a növénybe beépítjük a baktérium nitrogénkötési génjeit, úgy, hogy a növény önmagában is képes legyen a levegő nitrogénjének a megkötésére. Technikailag a nitrogénkötési gének bevitele bizonyos növényekbe ma már megvalósítható. A baktérium gének azonban csak akkor működnek növényben, ha igen precíz génsebészeti munkával növényi kontroll-régiókkal összeépítjük. Mivel a nitrogénkötést mintegy 15-20 gén kontrollálja, mindegyiket külön-külön a növényi kontrolláló génszakai után kell beépíteni. Ez technikailag is — óriási munka. Ugyanakkor a nitrogénkötés feltételeit a növényi sejtben is biztosítani kell, az oxigén megfelelő szállítását, energiát és még egyéb molekulák jelenlétét. Sajnos ma még az alap kutatások nem állnak azor a szinten, hogy ennek az elképzelésnek elvi realitását megmondhassuk. Ehhez a nitrogénkötés génjeinek szerkezetét, a szabályozásokat és magát a nitrogénkötési folyamatot jobban meg kell ismernünk.

Egyéb lehetőségek

Természetesen még számos további elvi lehetőség van a biológiai nitrogénkötés fokozására. Ugy tűnik, hogy a szimbiotikus nitrogénkötési szisztémák kifejlesztése sokkal hasznosabb, mintha csak szabadon élő baktériumokkal, algákkal termeltetünk ammóniát. Minél inkább a növény kontrollálja a nitrogénkötést /ami rendkívül energiaigényes folyamat/, annál gazdaságosabb a nitrogénkötés.

Az egyszikű növények egy része képes laza nitrogénkötési társulást kialakítani bizonyos szabadon élő nitrogénkötő baktériumokkal. A baktérium a növény gyökerén, illetve annak közelében él és a nitrogénkötéshez szükséges tápanyagokat a növény által kiválasztott szerves anyagokból meríti. Ugyanakkor a rhizoszféra kötött nitrogéntartalmát növeli. Egyes növényeknél a baktériumok a gyökérsejtekhez tapadva szorosabb társulást képesek kialakítani. A természetett egyszikű növények azonban erre általában nem képesek. Ujabban amerikai kutatók mintegy ötezer kukorica hibrid átvizsgálásával találtak kettőt, amely nitrogénkötő *Azotobacter* fajokkal képes laza szimbiotikus kapcsolatot kialakítani. Ez a növény nitrogénigényének csak mintegy 2-3%-át elégíti ki. Elképzelhető, hogy a szimbiotikus kapcsolat szorosabbá tételével ez az érték növelhető.

Összegezve az elmondottakat, a mezőgazdászoknak egyik nagy álma, hogy olyan növényeket termeljenek, amelyek kevés műtrágyát igényelnek vagy nem igényelnek egyáltalán. Ez a biológiai nitrogénkötés

tés fokozásán keresztül elvben megvalósítható. A cél elérésére a legmegfelelőbb stratégia kiválasztása: ez jelenleg a nitrogénkötési alapkutatások célja.

KONDOROSI ADÁM

IRODALOM

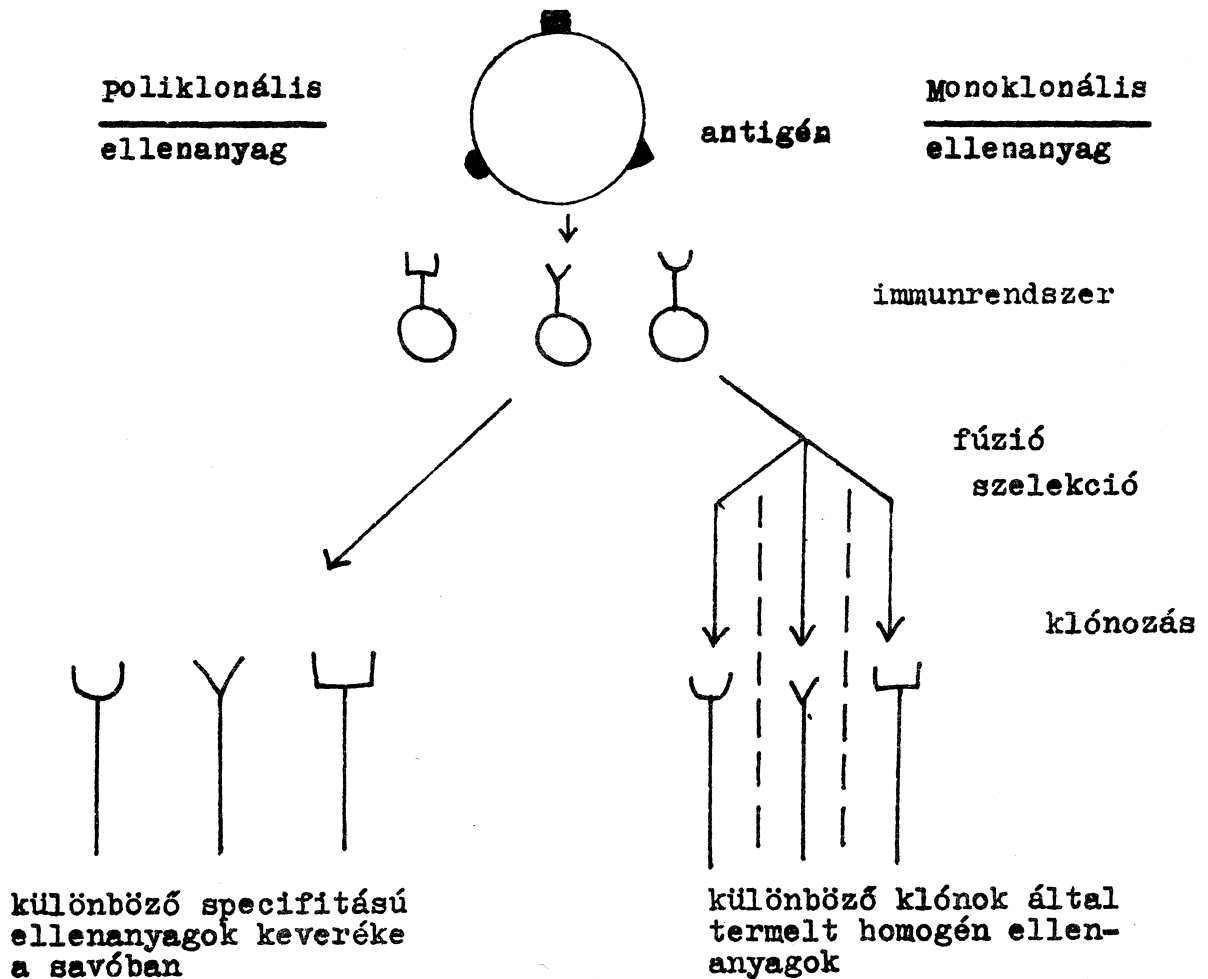
1. Kondorosi, A. /1980/ Biokémia IV/3, 13-24.
2. Forrai, T., Vincze, É., Bánfalvi, Z., Kiss, G.B., Randhawa, G.S., Kondorosi, A. /1983/ J. Bacteriol. 153, 635-643.
3. Kondorosi, A., Kiss, G.B., Forrai, T., Vincze, É., Bánfalvi, Z. /1977/ Nature 268, 525-527.
4. Bánfalvi, Z., Sakanyan, V., Koncz, C., Kiss, A., Dusha, I., Kondorosi, A. /1981/ Molec. Gen. Genet. 184, 318-325.
5. Kondorosi, A., Kondorosi, É., Pankhurst, C.E., Broughton, W.J., Bánfalvi, Z. /1982/ Molec. Gen. Genet. 188, 433-439.
6. Wong, C.H., Pankhurst, C.E., Kondorosi, A., Broughton, W.J. /1983/ J. Cell Biol. 97, 787-794.
7. Bánfalvi, Z., Randhawa, G.S. Kondorosi, É., Kiss, A., Kondorosi, A. /1983/ Molec. Gen. Genet. 189, 129-135.
8. Kondorosi, E., Bánfalvi, Z., Slaska-Kiss, C., Kondorosi, A. /1983/ in: "UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology, New Series" ed., R.Goldberg, Alan R. Liss, Inc., New York /in press/.
9. Kondorosi, E., Bánfalvi, Z., Kondorosi, A. /1983/ Molec. Gen. Genet. /in press/.
10. Török, I., Kondorosi, A. /1981/ Nucl. Acids Res. 9, 5711-5723.
11. Herrera-Estrella, L., Depicker, A., Van Montagu, M., Schell, J. /1983/ Nature 303, 209-213.

HIBRID-MIELOMÁK ÁLTAL TERMELT MONOKLONÁLIS ELLENANYAGOK

Monoklonális ellenanyagok és előállításuk

Az immunizálás eredményeként kapott immunszérumok az antigénként használt anyaggal vagy anyagok keverékével reagáló ellenanyagokat tartalmaznak. Ezeknek az ellenanyagoknak a specifitása és összetétele sokszor nem felel meg a tervezett felhasználási terület követelményeinek. Ha az immunszérum kimerítésével sikerül is az antigén egyetlen vagy kevés jellemző komponensével reagáló homogén ellenanyagot előállítani, a kapott immunszérum sohasem reprodukálható. A hibrid-mielomák - hibridomák - által termelt monoklonális ellenanyagok segítségével a komplex antigének antigéndeterminánsaikra - az immunglobulin molekula antigénkötő helye által felismert egység - bonthatók, az antigének egyedileg izolálhatók és jellemezhetők.

Az immunizált állatból származó ellenanyagtermelő sejtek klónozzhatók, azaz előállíthatók egyféle, homogén immunglobulint termelő limfocita klónok, ezek azonban a szövettényésztő közegben rövid idő alatt elpusztulnak. Az immunrendszer ellenanyagtermelő daganatai, a mielomák korlátlan proliferációs képességgel rendelkeznek ugyan, az általuk termelt ellenanyagok specifitása viszont általában nem ismert. Ha a specifikus ellenanyagot termelő - általában egérből származó - limfocitát és a korlátlan proliferációs képességű egér mieloma-sejteket fuzionáljuk, pl. polietilén-glikol jelenlétében, akkor a keletkező hibridsejtek két fő tulajdonsággal rendelkeznek: korlátlanul proliferálnak és ismert specifitásu ellenanyagot termelnek. Minthogy a hibridsejtek klónozzhatók, azaz felnevelhetők egyetlen sejt utódai, az antigénre adott heterogén immunválasz komponenseire bonthatók. A hibridsejtek szövettényészetben fenntarthatók vagy egérbe oltathatók és nagy mennyiségben termelik a specifikus immunglobulint. Ezzel a módszerrel - a hibridoma-technikával - olyan jól definiált immunglobulin reagensek állíthatók elő korlátlan mennyiségben, amelyek ismert antigéndeterminánsokkal reagálnak. A hibridoma-technikát, valamint a konvencionális immunszérumok és a monoklonális ellenanyagok közti fő különbséget a 28. oldalon látható ábra mutatja be vázlatosan. - A mielomasejtek és a limfociták fúziója eredményeként kapott hibridsejtek szelekciója olyan szövettényésztő közegben történik, amely csak a hibridsejtek túlélését teszi lehetővé. A szelekció hipoxantin-guanin-foszforszintet transzferáz enzimet nem termelő / HPRT⁻ / mieloma



sejtvonalak alkalmazásán alapszik. Az enzimhiányos sejtek elpusztulnak hipoxantint, aminopterint és timidint /HAT/ tartalmazó szelektáló médiumban. A hibridsejtekben a HPRT enzim szintézisét a HPRT⁺ limfocita partner genomja biztosítja. A limfociták a szövettényésztő tápfolyadékban néhány nap alatt elpusztulnak. Az osztódó hibridsejtek - ha fúzióra ellenanyagot nem termelő mieloma sejtvonalat használunk - többségükben az immunizált állat limfocitái által meghatározott specifitású ellenanyagot termelik. A hibridsejt populáció által termelt ellenanyagok specifitása az immunválasz keresztmetszetét adja, azonban a klónozás után a heterogén válasz egyedi komponenseire bomlik.

Az antigének általában komplex strukturák vagy sokszor nem-kivánatos anyagokkal szennyezettek, ezért fontos, hogy olyan rendszerben teszteljük az ellenanyagok specifitását, ahol a szennyező anyagokat kizárhatjuk - pl. funkcionális tesztek, enzimaktivitás-csökkenés mérése. A komplex antigénkeverékek sokszor erős immunogenitással rendelkező komponenseket is tartalmaznak, ami csökkentheti az antigénnel specifikusan kapcsolódó ellenanyagokat termelő klónok frekvenciáját.

ebben az esetben speciális immunizálási séma, immunválasz-képtelenség /tolerancia/ indukciója a nemkívánatos antigénnel szemben, a limfociták "in vitro" stimulációja segít áthidalni a nehézségeket.

Az ellenanyag specifitása nem az egyetlen kritérium az ellenanyagok kiválasztásakor. Használhatóságukat egyéb fontos szempontok is befolyásolják, így pl. aviditásuk, citotoxicitásuk, agglutináló képességük, stb.. A hibridsejtek kiválasztásakor szükséges mindezeknek a szempontoknak a figyelembe vétele, különben előfordulhat, hogy a specifitás alapján kiválasztott ellenanyag nem nyújtja azt, amit elvárnak tőle. Ezt elkerülendő mindig ügyelni kell arra az ellenanyagok kiválasztásakor, hogy azokat a módszereket használjuk, amelyeket a későbbiek során az ellenanyagok alkalmazásakor is használni kívánunk.

A poliklonális és monoklonális ellenanyagok közti lényeges különbségek

A szerológiai módszerek ellenanyagok keverékét tartalmazó antiszérumok használatára épülnek. A monoklonális ellenanyagok a homogenitás következtében sokszor nem azt a reakciót adják, amit a hasonló specifitású poliklonális ellenanyag. Bivalens ellenanyagok és monovalens antigének nem adnak precipitációs reakciót, ezért a monoklonális ellenanyagok alkalmazásakor erre tekintettel kell lenni. Precipitátum akkor képződik, ha a monoklonális ellenanyaggal kapcsolódó poliklonális ellenanyagot juttatunk a rendszerbe. A precipitáció hiánya a szerológusok számára szokatlan, mert poliklonális szérumokat és a poliklonális szérumok viszonylatában nem monovalens - több antigén-determinánst hordozó - antigéneket használnak.

Az ellenanyagok révén közvetített, a komplementtől függő citotoxicitási reakcióhoz az antigénen szintén több ellenanyagkötő helyre van szükség - hasonlóan az agglutinációhoz -, s ezenkívül az antigének sejtfelszíni megoszlása is meghatározó lehet a citotoxicitási reakció szempontjából. Így előfordulhat, hogy két, egymástól különböző antigénnel kapcsolódó monoklonális ellenanyag együtt alkalmazva sejtlizist okoz komplement jelenlétében, bár külön-külön használva mindkét ellenanyag inaktív.

Az ellenanyagok jó minőségét általában a magas specifitás és a minimális keresztreakciók biztosítják. A monoklonális ellenanyagok magas specifitása a homogenitásból ered, ez azonban nem zárja ki, sőt megnöveli a váratlan szerológiai keresztreakciók lehetőségét.

A gyakorlati szempontokat tekintve a kétféle ellenanyag közti egyik legfontosabb különbség stabilitásukban mutatkozik. A poliklo-

nális ellenanyagok többször fagyaszthatók és felolvaszthatók s egy ilyen művelet tapasztalatok szerint egy titerfok csökkenéssel jár. Monoklonális ellenanyag esetében viszont egy adott, minden szempontból homogén ellenanyagpopulációnak 50 % esélye van arra, hogy stabilabb, mint a keverék átlaga és 50% arra, hogy tönkremegy. Monoklonális ellenanyagok esetében ezért a standard antiszérumokhoz hasonló kezelés előre nem látható káros következménnyel járhat.

A fenti példákából jól látható, hogy lényeges különbségek vannak a monoklonális és poliklonális ellenanyagok között s ezek elsősorban abból adódnak, hogy az előbbiek az immunválasz során képződő ellenanyagpopuláció egyetlen, kicsi, de homogén frakcióját jelentik.

A monoklonális ellenanyagok fő alkalmazási területei

- A klinikai alkalmazás fontosabb területei

Mint hogy a monoklonális ellenanyagok az ellenanyagkeverékeket tartalmazó immunszérumokkal szemben jól meghatározott, standard reagensek, a standard diagnosztikai-kit-ekben fokozatosan elfoglalják az immunszérumok helyét. Alaptalannak bizonyult az a kezdeti aggodalom, amely szerint nem lehet eléggé nagy affinitású monoklonális ellenanyagokat előállítani ezekhez a kit-ekhez. Bármilyen tulajdonsággal rendelkező ellenanyag előállítható, ha a kutató nem fél kidobni nem megfelelő ellenanyagokat. Így a hormonszintek és az alfa-1-foetoprotein mennyiségének meghatározására alkalmas monoklonális ellenanyagok már kézben vannak.

A hibridoma-technológia az emberi limfocita, különösen pedig a limfocita heterogenitás vizsgálatában nyert széleskörű alkalmazást és eddig sok különböző sejtfelszíni antigént felismerő monoklonális ellenanyagot sikerült előállítani. Ez annak köszönhető, hogy a hibridoma technológiát immunológusok fejlesztették ki és az első vizsgálatokban ezek az ellenanyagok kerültek alkalmazásra. A leukocita sejtfelszíni antigénekkal reagáló ellenanyagokat széles körűen használják a limfocita differenciálódás vizsgálatára. A leukémiák osztályozását szintén monoklonális ellenanyagok segítik elő. A limfoid tumorok viselkedése és prognózisa jó összhangban van a monoklonális ellenanyagokkal meghatározott fenotípussal.

A monoklonális ellenanyagok széles körűen használhatók a sejteknek szöveti metszetekben történő azonosítására. Indirekt immunofluoreszcenciás vizsgálatok vagy immunoenzimes módszerek alkalmazásával sikerült elkülöníteni a nem differenciált limfomákat a másodlagos ráksejtektől. A timuszban folyó T-sejt differenciálódás és a

differenciálódó sejtek mikrokörnyezetének a vizsgálata szintén új és gyakorlati szempontból is hasznosíthatónak látszó eredményeket hozott. A T-limfocitákkal reagáló ellenanyagok nemcsak a T-sejt differenciálódás vizsgálatára használhatók, hanem T-sejt limfomák gyógykezelésére is lehetőséget adtak. A csontvelőt átszövő leukémia-sejtek eltávolíthatók a csontvelőből monoklonális ellenanyaggal való kezelés után, majd a csontvelő visszajuttatható a szervezetbe. A csontvelő átültetésekor fellépő ún. graft-versus-host reakció szintén megelőzhető a T-sejtek csontvelőből való eltávolításával.

A kémiailag módosított monoklonális ellenanyagoknak a gyógyításba történő bevezetése folyamatban van. Radioaktív izotóppal jelzett, alfa-1-foetoproteinnel /AFP/ kapcsolódó ellenanyagok lehetővé teszik az AFP-t termelő tumorok lokalizálását. Egyre jobban terjed a toxinokkal, elsősorban ricinnel kapcsolt monoklonális ellenanyagok alkalmazása a daganatos betegségek gyógykezelésében. Ebben az esetben a tumorspecifikus antigénnel kapcsolódó monoklonális ellenanyag mintegy a tumorhoz szállítja a toxint, ahol az kifejti specifikus öllő hatását. Az immunotoxinban lévő toxin specifikus aktivitása több-ezerszeresére nő és így viszonylag kis dózissal, mellékhatás nélkül, fokozottan pusztíthatók el a tumorsejtek.

- A kutatásban való alkalmazás főbb területei -

Nem megalapozatlanok azok a feltételezések, amelyek szerint a monoklonális ellenanyagok alkalmazása az élettani és biokémiai alapkutatásban is új eredményekkel jár majd. Az alfa- és gamma-interferon, továbbá az alfa-1-foetoprotein kedvezően szemlélteti a módszer hatékonyságát. Elő tudunk állítani alfa-1-foetoproteinnel kapcsolódó monoklonális ellenanyagot olyan "antigén"-nel történt immunizálás után, amely 1% AFP-t tartalmazott / kb. 3 év munkája /. A monoklonális ellenanyag segítségével immunaffinitás-kromatográfia alkalmazásával ezután egy lépésben állítottunk elő analitikailag tiszta AFP-t / 10 000-szeres tisztítás /, amelynek révén egy sorozat, AFP-vel kapcsolódó ellenanyag előállítására vált lehetővé /fél éves munka/. Jelenleg - más laboratóriumokban - az alfa- és gamma-interferon tisztítása vált lehetővé hasonló módszer alkalmazásával. Így, az immunaffinitáskromatográfia felhasználásával egy sor biológiailag aktív molekulát sikerült előállítani természetes forrásokból /vérsavó, sejthomogenátum, stb./ vagy génszintézeti módszerekkel nyert baktériumok táptalajából.

A biológiailag aktív anyagok nemcsak tisztíthatók, hanem a sejten belül lokalizálhatók is. Radioaktív izotópokat ^3H , ^{35}S tartal-

mazó aminosavak jelenlétében növekedő hibridomasejtek által termelt immunglobulinokat radioaktiv izotóppal jelöltek. Ezek a reagensek igen értékesek az immunhisztokémiai kutatásokban.

Pillantás a közeli jövőbe

Elméletileg lehetőség van bármilyen tulajdonságokkal rendelkező monoklonális ellenanyag előállítására - bármely fajból, ha az adott fajból származó mieloma sejt vonal hozzáférhető. A patkány eredetű ellenanyagok egyre szélesebb körben használatosak és talán klinikai alkalmazásuk szélesebb körű lesz, mint az egér ellenanyagoké, mert gyakoribb köztük a citotoxikus ellenanyag, amely emberi komplement jelenlétében képes a felismert célsejtek elpusztítására. Emberi eredetű monoklonális ellenanyagok előállítása több laboratóriumban megkezdődött, azonban a HAT-médium - valamilyen oknál fogva - kevésbé alkalmas a hibridsejtek szelekciójára, mint az egér és a patkány esetében. Bár a szelektáló közeggel összefüggő problémák előbb-utóbb megoldódnak, eddig egyetlen emberi mieloma sejt vonal sem bizonyult ideális fúziós partnernek.

A hibridoma-technika és a génsebészet kombinációja ellenanyagot termelő baktériumok előállítására célszerűnek látszik, azonban ez a kombináció valószínűleg zsákutcát jelent - pusztán a gazdaságossági szempontok miatt.

Ez a rövid összefoglalás mindenekelőtt a monoklonális ellenanyagok alkalmazásával összefüggő kérdéseket ismerteti. Tény azonban, hogy a hibridoma-technika más területeken is sikerrel alkalmazható. A T-limfociták és fúzióra alkalmas leukémiás T-sejtek fúziójának eredményeként már sikerült olyan hibridsejteket létrehozni, amelyek megtartják a T-limfocita szülő funkciót. Ezek a hibridsejtek a T-sejt funkció és a T-sejt differenciálódás vizsgálatában már széles körben használatosak. A hibridoma-technikához hasonló módszer elméletileg alkalmazható lehet bármely sejttípus halhatatlanná tételére, differenciálódott funkciójának vizsgálatára, illetve a sejt által termelt biológiailag aktív anyagok előállítására.

ANDÓ ISTVÁN

A hazánkban előállított és így a kutatások céljára könnyen hozzáférhető monoklonális ellenanyagok jegyzékét, valamint az intézeteket és a referensek nevét a következőkben adja közre a szerző / az adatok az 1983. szeptember 30.-i helyzetet tükrözik / :

DOTE Kóréletani Intézet - dr.ERDEI János
 DOTE Anatómiai Intézet - dr.GLANT Tibor
 POTE Kórbonctani Intézet - dr.NÉMETH Péter
 MTA SZBK Genetikai Intézet - dr.ANDÓ István

Specifitás Monoklonális ellenanyagok Előállító intézet

1. Human sejtfelszíni antigének

1.1 trombociták, megakariociták MTA SZBK
 1.2 mieloid elemek, monociták, NK-sejtek MTA SZBK
 1.3 monociták MTA SZBK
 1.4 leukociták /granulociták, limfociták/ MTA SZBK
 1.5 HLA-DR "monomorf" determináns MTA SZBK

2. Emberi tumorantigének és vérfehérjék

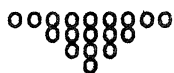
2.1 alfa-1-foetoprotein MTA SZBK
 2.2 mielin bázikus fehérje MTA SZBK
 2.3 albumin MTA SZBK
 2.4 szuperoxid dizmutáz /Cu-Zn/ POTE Kórbonctan
 2.5 fibronectin DOTE Anatómia
 2.6 proteoglikán-hialuronsavat kötő régiók DOTE Anatómia
 2.7 proteoglikán-SO₄-et kötő régiók DOTE Anatómia

3. Hormonok

3.1 vazopresszin MTA SZBK

4. Egyéb ellenanyagok

4.1 csirke IGG - gamma-lánc DOTE Kórélettan
 4.2 csirke IGM - mikron-lánc DOTE Kórélettan
 4.3 csirke IGA - alfa-lánc DOTE Kórélettan
 4.4 kecske gamma-globulin MTA SZBK
 4.5 bovin leukémia vírus gp69 antigén MTA SZBK
 4.6 patkány szérum albumin MTA SZBK



STRUCTURE AND DYNAMICS OF MEMBRANE LIPIDS

Utrecht, The Netherlands, 8-14 April 1984

FEBS Advanced Course

The course, for 30 participants, is organized by A.J. Verkleij, J. de Gier and B. de Kruijff and will consist of a combination of lectures, laboratory demonstrations and discussions. TOPICS: Lipid polymorphism and the significance of non-bilayer lipid structures; Molecular dynamics and order of lipids; Membrane fusion; Lipid-protein interactions and its functional consequences; Regulation of lipid composition in membranes; Membrane lipid diversity and the molecular shape concept. DEMONSTRATIONS: Lipid synthesis and purification by HPLC; Preparation and use of model membranes such as monolayers, liposomes and vesicles; High density DSC; NMR; Freeze-fracture electron microscopy. INFO: Dr. Ben de Kruijff, Institute of Molecular Biology, State University of Utrecht, Transitorium 3, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The Netherlands.

GONDOLATOK A BIOTECHNOLÓGIA HAZAI HELYZETÉRŐL ÉS LEHETŐSÉGEIRŐL

Mai helyzetkép-vázlat

A biotechnológiai tevékenységnek jelentős hazai hagyományai vannak. Egyrészt a hagyományos biotechnológia gyógyszergyárainkban, oltóanyag-termelő üzemekben, az élelmiszeriparban és a mezőgazdaságban korábban is rangos helyet foglalt el. Másrészt az elvileg új biotechnológiai tevékenységek, a hazai génmanipulációs kutatások és a monoklonális ellenanyagok előállításának színvonala sem marad el a nemzetközi eredményektől. Mindebben jelentős szerepe van párt- és állami szerveinknek, a Tudománypolitikai Bizottságnak és a Magyar Tudományos Akadémiának, a Szegedi Biológiai Központnak. Több egyetemi tanszék, állami gazdaságok és termelőszövetkezetek együttműködése nyomán a biotechnológiai alap kutatás bázisai és gyakorlata több területen is megvalósultak. Lényeges tényként tarthatjuk számon azt is, hogy számos szakemberünk járt külföldi tanulmányuton, nemzetközi kapcsolataink így ezen a területen jelentősek, ezen belül is a szocialista országokkal, a Szovjetunióval. Örvendetes az is, hogy az új biotechnológiai eljárások művelőinek nagy többsége a fiatalabb korosztályhoz tartozik. A biotechnológiai tevékenység hazai helyzetének felmérésére a Tudománypolitikai Bizottság kezdeményezésére a közelmúltban került sor. Ez megkönnyíti a jövő teendőinek megfontolását, áttekintését és programozását is.

Tennivalóink

A Magyar Szocialista Munkáspárt 1983 július 6.-i ülésén "Az ipar helyzete és feladatai" című témával szoros összefüggésben tárgyalták meg a biotechnológia hazai helyzetére vonatkozó előterjesztést. A határozatban elfogadott dokumentum iparpolitikánk egyik sarkalatos pontjaként jelöli meg a biotechnológia nemzetközi fejlődésével való lépéstartást. Ez ugyanis kedvező hatású lesz nemcsak a mezőgazdaság és az élelmiszeripar, hanem a vegyipar egyes ágai /gyógyszer- és növényvédőszer ipar/, továbbá a környezetvédelem, sőt még az energetika fejlődésére is. Ehhez széles körű együttműködés szükséges sokféle ágazat kutatói és termelői között. Természetesen a központi szervezés sem nélkülözhető ebben a fontos és részben csak távlati eredményekkel kecsegtető ipari tevékenységben. A biotechnológiai kutatások és új technológiák bevezetése számos hazai feladat gondos számbavételét és elemzését igényli és legalább olyan figyelmet érdemel - véleményem szerint - mint amit a hazai nukleáris energia bevezetése kapott. A biotechnológiai tevékenység hazai irányításával kapcsolatos OMFB - feladatot fontosnak tartjuk. Ezen túlmenően azonban - nézetem szerint - kívánatos és helyes volna biotechnológiai tanácsadó testület létrehozása. Ez a feladatok koordinálását és a sorrendiséget határozná meg, hogy elkerülhető legyen az erőök szétforgácsolódása /aminek megvan a veszélye/. Kiemelt támogatást ott volna célszerű adni, ahol a kutatás eredményei hazai vagy nemzetközi piacon termékként - észszerű kockázatvállalással gyorsan megtérülő ráfordításokkal értékesíthetők. Célszerű volna jobban kihasználni nemzetközi kapcsolatainkat és tervszerűen vállalni munkamegosztásban való részvételt is.

képzés, továbbképzés, szervezés

A biotechnologia különböző területein dolgozó technikusok és mérnökök képzését és továbbképzését a jövőben szervezettebb feltételek között kell végezni. Egyes egyetemeink és főiskoláink programjában az alapképzés melletti ún. modul képzési vagy ráképzési rendszer

mielőbbi megvalósítása kívánatos.

A biotechnológiai ipar, illetve iparszerű művelés rendkívül szigorú koordinálást és integrált együttműködést, vezetést kíván, ami a hazai kutatás és ipari tevékenység számára - sajnos, nem ritkán - idegen. Az eddigi hazai viták ezt a multidiscplináris tevékenységet még mindig ágazati rendszerekbe próbálják "begyömösözni" vagy mindenféleképpen szétdarabolni alapkutatásra és felhasználó tevékenységre. Új technológiák bevezetésekor számolni kell azzal a korlátozó tényezővel, hogy a hazai kooperációs készség általában igen alacsony. Az egymásnak ígért és az egymás között vállalt kötelezettségekben kívánatos mielőbb helyreállítani a megbízhatóság értékét. Nem szabad szem elől téveszteni azt sem, hogy tudományos kutatási kapacitásunk és fejlesztésünk - korábbi hibákból eredően - nem arányos az ipari fogadókészséggel. Nemcsak az anyagi eszközök ráfordításában vannak igen komoly lemaradások - s ezért tudományos lemaradásunk viszonylag sokkal kisebb, mint a technikai, műszaki színvonalunk elmaradása. A biotechnika fejlesztésében - gondos analizisek alapján - prioritások kialakítása szükséges. A "mindent fejleszteni" elképzelésnek csak sikertelenség lehet a következménye. Néhány terület kiválasztása célszerű és a kölcsönhatások figyelembe vétele. A kiválasztott témák között lehet prioritása egynek, amelynek fejlesztése olyan értékhozamu, hogy képes biztosítani más témákhoz is a szükséges tőkebefektetést. Megkülönböztetett figyelmet kell fordítani arra, hogy az ipari technológia színvonala összhangban legyen a kutatás, fejlesztés színvonalával.

A kutatások eredményei, mint szellemi termékek - bizonyos korlátozott számban - szabadalmak eladásával is értékesíthetők.

A biotechnikai tevékenység egységes kutatóbázist / egy adott témára vonatkoztatva / és vele együttműködő, rugalmas ipari vezetést kíván. A hazai kutatási és termelési rendszerek között napjainkban még érezhető bizonyos kölcsönös lebecsülés. A termelés területén ez pl. abban nyilvánul meg, hogy inkább fordulnak egy azonnal rendelkezésre álló licenchez, minthogy kutatási tevékenységet kérjenek egy hazai kutatóintézetétől. Ezen a helyzeten kívánatos mielőbb változtatni. A kutatóintézeteknek is megbízhatóbb, jobb partnereknek kell lenniük a jövőben. Az érdekeltségi és érdekazonossági tényezők felderítése fontos tényezője a fejlődésnek. A hazai kutatási eredmények hibás értékelése kedvezőtlen következményekkel jár: előbb-utóbb még egy külföldi szabadalom hazai bevezetését is megnehezíti. A biotechnikai kutatás a termelői szférában is rugalmasságot igényel, ezért lehet jelentős szerepe új technológiák megvalósításában állami gazdaságoknak és termelőszövetkezeteknek is. A külső kutatási megbízások követelményeit és a minőségi igényeket célszerű fokozni. A hazai biomasza program szerves része kell, hogy legyen a biotechnológia hazai fejlesztésének.

Bár a hazai szabadalom és találmányi rendszerünk a közelmúltban korszerűsödött, a biotechnológiával kapcsolatban mozgékonyabb, rugalmasabb és nagyobb érdekeltséget nyújtó sajátos ösztönzési rendszer kialakítása látszik célszerűnek.

A biotechnológia hazai fejlesztésének egyik kulcskérdése a szervezési és támogatási rendszer új kapcsolatának kialakítása. A tudomány és a gazdaság - ipar és kereskedelem - szoros integrációjára van szükség. Arra, hogy a műszaki fejlesztés a megfelelő helyére kerüljön a tudományos kutatási tevékenység hasznosítható eredményei és az anyagi javak termelése közötti rendszerben.

ANTONI FERENC

Az áltudományok kérdéséhez

Írta: Szentágothai János, a Magyar Tudományos Akadémia elnöke

Nem is sejtettem, milyen darázs-fészekbe nyúlok, amikor az MTA 1983-as közgyűlésének zárt ülésén — és előzőleg már más alkalommal is — pár szót ejtettem tudományos és a tudománnyal összefüggő közéletünk néhány, „áltudomány” általánosító címszó alatt összefoglalóan ferdeségéről.

Megjegyzéseimmel csak az volt a célom — és az MTA közgyűlésének határozata sem irányult másra —, hogy *legalább* állami pénzen kiadott, illetve fenntartott tömegkommunikációs szerveink ne propagáljanak nyilvánvalóan áltudományos nézeteket. Esze ágában sem volt senkinek adminisztratív eszközök alkalmazását sürgetni — szépen is állnának, ha tudományunknak erre lenne szüksége! —, legyenek boldogok azok a „szellemi szegények”, akik különböző csodagyógyászatokba vetik bizalmukat (bizonyos, alant részletezendő fenntartásokkal), akik asztrológiában, okkultizmusban, pszichokinézisben, telepátiában, UFO-kban hisznek. Az emberi butaság és hiszékenység tudvalevően határtalan, és látszólag változatlanul az is marad — ha éppen nem erősödik — még a tudományos-technikai forradalom korszakában is; ettől az emberiséget aligha fogjuk megváltani.

Az újságíró-szövetségben és az újságírók szakmai folyóiratában ezzel kapcsolatban lezajlott vita néhány mulatságos, néhány elszomorító (helyenként bosszantó) megnyilatkozása sajnos arra utal, hogy a *probléma nem mondvacsinált*, erős indulatok élnek ezzel kapcsolatban még a tömegkommunikáció szakavatott művelőiben is, amit jól jelez néhány rosszindulatú oldalvágás a „tudományes establishment” felé, kiagyalt elképzelések a kérdés felhozásának motívumairól (erről inkább célzásokban).

A megismerés korszakváltása

Vitába szállok azonban azzal a nézettel, hogy az áltudománnyal a tudománynak nincsen baja. Jó volna, ha ez ilyen egyszerű lenne: sajnos, nem az. Akadémiai közgyűlési beszámolómban éppen erre próbáltam rámutatni.

Az „áltudomány” szó valójában kis-sé vitatható — ezt a sajátvitában egyesek helyesen észrevételezték —, és Martin Gardner, a „látszólagos rendkívüli tudományos megállapítások” elleni harc világszerte kiemelkedő képviselője 1981-ben megjelent munkájában nem is áltudományról,

hanem *jó, rossz és „bogus” tudományról* beszél. Ez utóbbi kifejezés a magyar „ál, hamis, utánczott, színlelt, tettetett, fiktív” szavak mindegyikének a lényegét tartalmazza, ráadásul utolérhetetlen megvetéssel, leminősítő felhanggal — helyesebben fel-„szaggal”, tudniillik a bog = mo-csár, árnyékszék.

Ahogy említett akadémiai felszólalásomban is próbáltam érzékel-tetni, a *szokványosan használt áltudomány szón nagyon sokfelét*, köztük szigorúan oda nem tartozót is szoktuk érteni.

Ide tartoznak elsősorban a Gardner szerint értelmezett „rossz tudomány” címszó alatt összegyűjthető nézetek: ez nem más, mint *egyéb-ként helyes felismerések kiterjesztése érvényességi körükön túl*. A tudomány mai fejlődésében óhatatlan, hogy a végtelen kicsiny és nagy — tudniillik az elemi részecskék körüli és a kozmikus — nagyságrendben való tájékozódáshoz olyan elméleteket és matematikai formalizmusokat alkalmazzanak, amelyek a földi méretben reális és számunkra könnyen belátható alapelveinkkel ellenkeznek. Emellett jelenlegi tudományunkra egy, a tudományos *megismerés mechanizmusa körüli filozófiai mélységű korszakváltás* a jellemző, az indukció és dedukció arányának és szerepének változása folytán. A múlt századi pozitívizmus tradícióiban nevelkedett kutatók közül sokan bizalmatlanul szemlélik e változásokat, és nem egészen jogtalanul a tudomány egy dekadens irányának térhódításától tartanak.

Az itt csak nagyon durva körvonalakban jelzett tudományos szemléleti korszakváltás érthető módon ki-élezi a tudomány belső frontjait, és egyben jelzi, hogy távolról sem könnyű *minden* adott pillanatban eldönteni, mi a *valóban* új és előremutató (különösen a tudomány belső frontján), és mi a jöhíszemű — de sajnos, nem mindig teljesen jöhíszemű — félreértés és hamis irány.

Félreértésektől a kóros agyszüleményekig

Egyértelműen a „rossz tudományhoz”, illetve a „bogus tudományhoz” sorolható a *naiv tudomány* számtalan megnyilatkozása. A tudomány óriási presztízse és népszerűsítése mellett óhatatlan, hogy olyanok, akik nem rendelkeznek kellő tudományos iskolázottsággal, vagy akiknek az ismeretei az irodalommal való lé-

péstartas hiánya folytán elavultak (ehhez ma néhány év elegendő), téves vagy a realitástól elszakadt „tudományos” felismerésekre jutnak akár elméleti, akár gyakorlati területeken, és ostromolják a folyóirat-szerkesztőségeket, végső fokon az Akadémiát, hogy ezeket közöljék, és nyerjék el elismerésüket.

E művek a félreértett vagy rosszul alkalmazott tudományos tételekből vagy törvényekből önálló életre kelt képzetrendszerektől a nyilvánvalóan kóros agyszüleményekig *széles spektrumot* fognak át. De szerzőik sok esetben azért annyira nem rugaszkodtak el a realitástól, hogy irataikba mindjárt be ne építsék anyagi követeléseiket...

Érveik közt sokszor szerepel az, hogy találmányukra itt vagy ott *szabadalmat nyertek*. Szabadalmat bizonyos feltételek mellett szinte mindenre lehet nyerni, az ezeket megadó szervek természetesen nem vállalkozhatnak a szabadalom tárgyát képező gondolat vagy találmány tudományos helyességének, gyakorlati alkalmazhatóságának és pláne gazdaságos felhasználóságának eldöntésére. Aki ilyenre hivatkozik, az csak a szabadalmaztatás jogi mechanizmusa és értelme körüli teljes tájékozatlanságát árulja el. A tudomány és technológia történetében valamennyire is tájékozott ember ennek ellenére tucatjával sorolhat fel olyan találmányokat, amelyek tudományosan helytelen alapokra épültek, de valami más okból kifolyóan mégis eredményesek voltak, és óriási gyakorlati és anyagi hasznot hoztak. Mégis nyilvánvaló abszurdum lenne, ha valaki ebből olyan következtetésre jutna, hogy a tudományos ismeretekkel *ellentétben* álló feltételezések alapján lenne célszerű „feltalálni”.

Sok bajt és sok zavart okoz a *tisz-tán tapasztalati* (empirikus) úton szerzett ismereteket összetévesztési és főleg — ahogyan sokan teszik — tudatosan szembeállítani a *tudományal*. Az emberiség a történelem előtti időkől fogva igen eredményesen alakította ki növénytermesztési, állattenyésztési és technológiai ismereteit, minden tudomány nélkül, tisztán évezredek tapasztalatait összegyűjtve. A nagy agrárforradalom, tehát 10–15 ezer év óta, az ember genetikai ismeretek nélkül is ezrével tenyésztett ki hasznos növény- és állatfajtákat. Ugyanígy a toledói, damaszkuszi és japán fegyverkovácsok műremekei, a vas és egyéb fémek ko-

hátszátára vonatkozó tudományos ismeretek nélkül, erősen megközelítettek (ha ugyan nem haladták túl) a mai tudományos ismeretek birtokában elérhető optimumot.

Ha lenne pár ezer évünk...

A példákat napestig sorolhatnánk. Hiába, az ember találatekonysága (csakúgy, mint előzőleg említett ostobasága) nem ismer határt, és semmi okunk és jogunk nincsen az évezredek tapasztalati ismereteket lebecsülni. Csak azután ne próbáljuk megfordítani a dolgokat, mondván: „pokolba a tudománnyal, az élet a gyakorlat”. Hát persze, ha lenne pár ezer évünk arra, hogy „próbálkozás-tévedés” mechanizmussal fejlesszük tovább technikánkat, akkor ez rendben is lenne. A tudomány lényege épp az, hogy a természeti vagy társadalmi törvények birtokában bizonyos dolgokat előre lássunk, és a fejlődés ütemét nagyságrendekkel meggyorsítsuk. A gyakorlat továbbra is próbája a tudománynak, de a fejlődés stratégiája gyökeresen más.

A valódi tudomány ismerve a szerénység, amihez többek közt az is hozzátartozna, hogy nem csupán elméleteit ne alkalmazzuk érvényességi körükön túl, hanem az is, hogy figyelembe vesszük magának a tudományos megismerésnek a mindenkor — persze időben változó — korlátait. Nem hisszük, hogy a tudomány jelen pillanatban a természeti és a társadalmi lét teljességét maradtalanul meg tudná magyarázni. Persze a közgazdaságban, sebészetben és politikában (és sok más területen) annál jobb lesz döntésünk és intézkedésünk, minél jobb annak a tudományos megalapozottsága. De ez azért korántsem minden: az igazi alkotó gondolkodáshoz és döntéshozzáért tartoznak olyan emberi tényezők, mint intuíció, művészi arányérzés és feltétlen elkötelezettség. Ezek tudományos magyarázatától még messze vagyunk.

A tapasztalati ismeretek felhasználásában kiemelkedő helyet foglal el az orvoslás. Se szeri, se száma — főleg régi civilizációkban — a zseniális orvosi megfigyeléseknek és gyógymódoknak, mégis, a legutóbbi 150 év tudományos fejlődése növelte meg évtizedekkel az ember várható élettartamát: egyes népbetegségeket teljesen kiirtott, másokat messzemenően visszaszorított, a penicillin alkalmazása 1943 óta több embert mentett meg az életnek, mint amennyi állítólag a történelem összes ismert háborújában elpusztult, ezrével élnek a szívműtéttel, pacemakerrel, veséátültetéssel meghosszabbított életűek, még a rákban megbetegedetteknek is ma kétszer nagyobb a túlélési esélyük, mint akár csak tíz évvel ezelőtt volt.

De hát, ugyebár, elégedetlenek vagyunk: „miért nem alkalmaznak szélesebb körben és az egészségügyi ellátásban olyan eljárásokat, mint az akupunktúra, jóga, autogén tréning, pszichoanalízis stb.?” — kérdezik sokan és eléggé agresszívan. Azt már nem veszik figyelembe, hogy ahol — nyugati országokban — óriási apparátussal (és még nagyobb hírveréssel) az ilyen kezelési módok általánosak, nagy presztíztől övezettek, és művelőiknek persze jelentékeny hasznot is hoznak, a betegbiztosítók egy centet sem fizetnek a nem szigorúan tudományos kezeléseikért. Azt az analitikus kezelést például, amit egy-egy serdülőkori problémás gyermekükért a szülők inkább dollártizezrekért, mint ezrekért kénytelenek külföldön vállalni, minálunk egyenértékben az iskolapszichológiai szolgálat révén költségmentesen kapják.

Mágikus világszemlélet

Ne értsük félre: eszem ágában sincs vitatni sok jóhiszemű és egy-egy nem konvencionális kezelés eredményességéről meggyőződött orvos jogát, hogy az orvosi lelkiismeret és etika szabályai szerint ilyen alkalmazzon.

Ha engem egy kínzó lumbágótól vagy más ún. reumás fájdalomtól egy, az akupunktúrát jól művelő orvos néhány vagy sok esetben egyetlen kezeléssel megszabadít, akkor magam is elmegyek hozzá. „pokolba a tudománnyal, nekem most fáj” jellegével. Csak: erre is érvényes az előzőekben már említett a „stratégia meg nem fordíthatóságának törvénye”.

Az orvoslás kényes téma, és vitatható eseteknek a tömegkommunikációs eszközökben való szellőztetése nem feltétlenül hasznos a betegeknek, bármilyen szimpatikus legyen is a jó szándékú riporter. Azt hiszem, egészségügyünk vezetése jogosan kérheti a közvélemény bizalmát, hogy jobb informáltsága és szakismerete birtokában az erre (devizában) szükséges társadalmi áldozatvállalás indokoltságát mérlegelje. A sajtó legyen éber, és ha kell, leplezzen le visszasságokat — mert, sajnos, vannak — akár kíméletlenül, de jobb, ha meghallgatják előbb a másik oldalt is. És hát persze a tudományos és egészségügyi vezetés se falazzon.

Nem szóltam a még az áltudomány nevet sem megérdemlő bizarr, az okkultizmus, asztrológia, parapszichológia, UFO-k területére tartozó ostobaságokról. Ezek egy, az emberi nem történelméből visszamaradt mágikus világszemlélet elemel, amelyekkel már a nagy kultúrvallások is — legkonzekvensebben a júdaizmus — évezredek óta próbáltak megküzdeni.

Tiltásoknak híve nem lennék, de, bár népünket felnőttnek kell tartanunk, és mindent nyíltan fel kell tárunk a közvélemény előtt, ez nem jelentheti a népbiztonság szabadpiaci virágának átvételét.



OLVASÓINKHOZ !

szerkesztő bizottságunk szeretettel köszönti minden olvasóját és eredményekben gazdag, sikeres, boldog új évet kíván. Ezután is köszöni mindazoknak az együttműködését, akik társadalmi munkában írásaikkal hozzájárultak tájékoztatónk színvonalának emeléséhez. Meggyőződésünk, ezzel a közérdekű tevékenységükkel jól szolgálták tudományágunk hazai fejlődését.

Tájékoztatónk 8. évfolyamába lépve ezután is legjobb tudásunkkal igyekszünk folytatni munkánkat az induláskor kitűzött célok megvalósításáért. Lapunkat továbbra is saját erőnkönél — központi támogatás nélkül — tartjuk fenn, társadalmi munkában szerkesztjük és írjuk. A MTESZ lapokra vonatkozó rendelkezések alapján azonban lehetőségünk kínálkozik a jövőben a legjobb cikkek, beszámolókat jutalmazására. Ezért az újév küszöbén a BIOKÉMIA szerkesztő Bizottsága ismét felhívja olvasóit: éljenek azzal a lehetőséggel, hogy lapunknak írói is lehetnek. Várjuk jelentkezésüket.

felelős szerkesztő



1983 január - június

Néhány év óta tudjuk - a DNS szekvenciák meghatározására kidolgozott technikák alapján -, hogy az eukariotákra általában jellemző a gének mozaikszerű elrendezése a DNS-molekulán belül. V.GILBERT 1978-ban tett javaslata nyomán a kifejeződő szakaszokat exonoknak, az őket megszakító - nem kódoló részleteket intronoknak nevezzük. Teljesen biztos adatunk - sajnos - még nincs arra vonatkozólag, hogy a fehérjeszintézis kódolásában részt nem vevő intronoknak mi lenne a biológiai szerepük. C.BLAKE érdekes hipotézise szerint /január, 11.o./ az evolúció sebességének növelésére van így lehetőség az intronok és exonok rekombinációja révén.

Viszonylag bonyolult lépés a koleszterin szintézisének korai szakaszában az 5-pirofoszfó-mevalonát dekarboxilezését bonyolító enzimreakció. A kétszubsztrátos és négytermékes enzim irreverzibilis folyamatban egyszerre bonyolít le dehidratálódást és dekarboxileződést ATP egyidejű hasadása árán. Gyakorlatilag minden tankönyv kötelezőnek tekinti a 3-foszfó-5-pirofoszfó-mevalonátot, holott ennek a képződésére semmiféle bizonyíték nincs. E.CARDEMIL és A.M.JABALQUINTO a "Tankönyvhibák" című rovatban /január, 7.o./ rövid, de meggyőző irodalmi elemzését adják ennek a helyzetnek. Sajnos, a tankönyveket - tankönyvekből írják és így az efféle jelenségek egyszerűen kikerülhetnek. - Ha már a tankönyveknél tartunk, felhívjuk a figyelmet Albert L.LEHNINGER új könyvére: *P r i n c i p l e s o f B i o - c h e m i s t r y* /recenziója a januári füzetben, 33-35.o./.

Viszonylag kevesen gondolnak arra az enzimológiai lehetőségre, hogy a szén-dioxid is lehet allosztérikus modulátor, annak ellenére, hogy az első allosztérikus effektor, amelyet az irodalomban közöltek, éppen ez az egyszerű molekula volt. 1904-ben BOHR, HASSELBACH és KROGH ismertették először, hogy a szén-dioxid a hemoglobin O₂-telítési viselkedését hogyan befolyásolja. - A karbamát-képződés egyszerű, spontán reakciója - úgy látszik, hogy ennél több lehetőséget kínál fel az evolúció számára. Erről tanuskodik G.H.LORIMER valóban érdekes írása /február, 65.o./. Felhívom a figyelmet a STANFORD MOORE és HUGO THEORELL halála alkalmából készült nekrológokra is /február, 44. és 45.o./. Ezek a biokémia történetének szempontjából is érdekes adatokat tartalmaznak, így tankönyv és jegyzetírók számára különösen ajánlhatók.

Az *E.coli* riboszómáinak fehérjéiről ugyszólván minden fontosat megtudtunk már, kivéve egyet: mi a biológiai szerepük? Ennek a kérdésnek a megválaszolására új irányban kutatnak: olyan hiány-mutásokat tanulmányoznak, amelyek nem képesek egyes riboszómális polipeptidek szintézisére. Találtak már olyan törzset is, amely az ötvenből 15 riboszómális fehérje szintézisére nem képes, de azért szaporodik. Az izolált hibás riboszómák in vitro rendszerekben is képesek egészen pontos transzlációra, jóllehet kissé lassabban működnek, mint a vad forma riboszómák. Tájékozódásra ajánlhatom R.GARRETT cikkét /március, 75.o./. - Rendkívül érdekes jelenség, hogy mennyi minden történik egy prokariota sejtben akkor, amikor a sejt DNS-állományát kémiai sérülés éri. Egy rendkívül bonyolult részreakció-hálózat koordinált működése indul meg, s ennek csak egyik részjelensége a reparáló enzimek aktivitása. C.J.KENYON élvezetes és világos tanulmányát

melegen ajánlhatom a biokémia oktatásában érdekelt kollégáknak - /március, 84.o./ - Az E.coli páros T-fágjainak egyik közös biokémiai jellemzőjük az, hogy fágfertőzés után a gazdaséjtben indukálódik egy RNS-ligáz. Bár ezeknek az enzimeknek élettani jelentősége még nem ismert, aktivitásuk mérésére több út járható és specifikumukról is sok részletet közöltek. E furcsa enzimek közül a T4 eredetű pontos jellemzését olvashatjuk O.C.UHLENBECK tollából /március, 94.o./.

A mitokondriális fehérjék részben magi, részben pedig mitokondriális információk alapján szintetizálódnak, ahogyan ezt már régóta tudjuk. Képződésük és transzportjuk egyaránt vonzó témák a kutatók számára. Az élesztő mitokondriumok fehérjeinek importjáról szól A. TARTAKOFF rövid, érdekes írása /április, 118.o./. Az áprilisi szám jubileumi rovata a C vitamin történetét foglalja össze HUGHES írásában /146.o./ Nagy valószínűség szerint a C vitamin az az anyag, amellyel tényleg legrégebb óta foglalkozik talán a legtöbb kutató. Tucatnyian - egymástól teljesen függetlenül - állították elő különböző időpontokban és különböző forrásokból ugyanazt az anyagot. Különösen érdekes ez a tanulmány SZENT-GYÖRGYI 90.születésnapjának i-dőszerúsége miatt, és tanulságos összevetni a BIOKÉMIA szeptemberi számában megjelent, BANGA Ilona tollából származó visszaemlékezés-sel. Az állati szervekben /máj, vese/ zajló glukóz-szintézis hormonális szabályozása nagyon bonyolult gépezet. Elég jó áttekintést ad e témáról H.MEISNER et al.riportja /május, 165.o./, amely a foszfoenolpiruvát karboxikináz nRNS szintézisének ciklikus AMP által való befolyásolását részletezi. - Mintegy 50 évvel ezelőtt írták le - HOUSSEY és mtsai - először a hipofízis és a diabetes mellitus kapcsolatát. A jubileumi írást /május, 181.o./ külön figyelmébe ajánljuk azoknak, akik orvosgyetemen oktatnak biokémiát.

ALKONYI ISTVÁN



HOGYAN IRJUNK ABSTRACT-et ?

Az előadás-kivonat (Abstract) alapján bírálják el, érdemesek vagyunk-e arra, hogy kiselőadással vagy poszterrel hazai vagy külföldi tudományos rendezvényen szerepeljünk. Fontos tehát, hogy Abstract-ünk jó legyen. Abstract-et írni látszólag könnyű, mégis sok a helytelenül megírt, hiányos, amit - sajnos - a MBKE tagjainál is tapasztalunk. Felmerült ezért az igény, hogy a fiatalok számára rövid útmutatót adjunk Abstract-író munkájuk megkönnyítésére. Az alábbi tanácsok nem mindegyike abszolút szabály, betartásuk azonban biztosítja, hogy Abstract-ünk elfogadható legyen. Fiktív (!) példáink angol nyelvűek, mert Abstract-jeink jó részét angolul írjuk, de útmutatónk éppúgy érvényes a magyar nyelvű előadás-kivonatokra.

1.) CIM: Az Abstract címe fejezze ki minél pontosabban a munka lényegi mondanivalóját. A rövidség nem feltétlenül előny (pl. "Studies on liposome glycolysis"). Hatásos, ha a cím egy kijelentő mondat, ritkább esetben kérdőmondat (pl. "The N-terminal sequence of cellophanase is located at the C-terminus."; "Does any enzyme follow the Bi-Bi-Zig-Zag Mechanism?"). A "studies", "investi-

gations" etc. szavakat, illetve magyar megfelelőiket kerüljük, mert nincs információ-tartalmuk. Gondosan mérlegeljük a címben szereplő mindegyik szó szükségességét. Csak általánosan elfogadott rövidítéseket alkalmazzunk.

2.) **MUNKAHELY:** A munkahelyet pontosan, postai címzésre alkalmas módon nevezük meg. (pl. Peripatetic Research Laboratories, Budapest, P.O. Box 100, H-1234, Hungary). Különböző intézményeknél dolgozó társszerzők esetén egyértelműen jelöljük, a vezetéknev és intézmény-névhez írt felső indexszel, ki hová tartozik.

3.) **SZÖVEG:** Az Abstract a tudományos közlemény miniatűr változata, tehát annak összetevőit tartalmaznia kell, sűrített formában. Néhány bevezető mondat szóljon a munka előzményeiről és céljáról. Ezután leírjuk milyen anyaggal, milyen módszerekkel, milyen eredményeket kaptunk és ezekből mire következtetünk. Ügyeljünk rá, hogy az Abstract informatív legyen anélkül, hogy túlságosan a részletekbe menne. Igy pl. a kísérleti körülmények (pH, hőmérséklet, puffer, stb.) megadása csak akkor indokolt, ha azoknak különös jelentőségük van saját munkánkon belül vagy mások kísérleteivel való összehasonlításban. Gondoljunk arra, hogy az "anti-Abstract" valahogy így szólna:

"Investigations were carried out on the available material, in 0.1 M Tris-HCl buffer, pH 7.9, at 25°C, by the methods that were at our disposal. The results thus obtained will be discussed and compared to other data in the literature." - E groteszk példa hibáit kell rendre elkerülnünk. Az eredményeknél adjuk meg a fontosabb számszerű mennyiségeket. Ha következtetéseink túl bonyolultnak tűnnek ahhoz, hogy az Abstract-be kerülhessenek, akkor se elégedjünk meg a "will be discussed" fordulattal. Próbáljuk meg, hátha legalább körvonalazni tudjuk egy-két mondatban, mi a tamulás. Ha az általánosan elfogadott rövidítések mellett másokat is kívánunk használni, azokat zárójelben adjuk meg a teljes kifejezés első előfordulása után. Ne rövidítsünk összetett kísérletes folyamatokat, különösen, ha azok saját kombinációink (pl. nem helyes: DAHPP = Determination of Absorption by High-Pressure Pornography). Ha irodalmi hivatkozások feltétlenül szükségesek, azokat rövid formában, de bibliográfiailag egyértelműen írjuk le (tehát Scotch, Black and White, 1983, helyett: Scotch et al.: J. Irrepr. Res. 517, 29 /1983/).

4.) **ÁLTALÁNOS TANÁCSOK:**

- Ügyeljünk a nyelvhelyességre angol és magyar szövegnél egyaránt. A biztonság érdekében olvastassuk el a szöveget valakivel, aki jól tud az illető nyelven.
- Gondosan tanulmányozzuk a szervezők utasításait az Abstract formai követelményeire vonatkozóan.
- Tiszta, hibátlan, lehetőleg villanyírógéppel írt szöveget nyújtunk be.
- Ha nincs megfelelő anyagunk, ne küldjünk be róla Abstract-et.

BESZÁMOLÓ AZ UPPSALA BIOCHEMICAL SEPARATION SCHOOL-RÓL

1983. március 22 - június 7

Csaknem egy évtizede annak, hogy az Uppsalai Egyetem Biokémiai Intézete minden tavasszal meghirdeti tizhetes nemzetközi módszertani iskoláját a biokémiai elválasztási eljárások témakörében. Az iskolának az a célja, hogy a tizenkét résztvevő megismerje a biokémiai elválasztási módszerek elméletét és gyakorlatát. A kurzusnak az idén másodizben volt magyar résztvevője - személyemben. Az iskolán az ICRO ösztöndíjával tanulhattam. A résztvevők kiválasztásában a két szervező professzor, Stellan HJERTÉN és Paul ROSS mindig arra törekszik, hogy az egyetemről kikerült, tudományos pályafutásukat még éppen csak kezdő fiatalokat válogasson és vezessen be az elválasztási módszerek rejtelmébe. Iratlan szabályoknak megfelelően - hat svéd és hat külföldi hallgatót vesznek fel. Ebben az évben a külföldiek csehszlovákiából, Argentínából, Finnországból, Spanyolországból, Singapore-ból és Magyarországról érkeztek. Meglepő volt számomra, hogy bár a világ távoleső pontjairól jöttünk össze, biokémiai, fizikai-kémiai és matematikai ismereteink igen hasonlóak voltak. A hat svéd hallgató csaknem kivétel nélkül PhD-jén dolgozó vegyész, biológus, illetve állatorvos volt. A tanfolyamnak az angol volt a hivatalos nyelve.

Az Intézet története - A biokémiai elválasztási módszerek tudományát - némi túlzással talán - svéd nemzeti tudománynak tekinthetjük. Ezt támasztja alá az Intézet története. Ez a történet az Uppsalai Egyetem Fizikai-kémiai Intézetében indult - Theodor /THE/ SVEDBERG munkájával, akinek az 1924 júliusában a JCS-hoz küldött - The Ultracentrifuge című cikkével vette kezdetét a biokémiai elkülönítési módszerek kutatásának története. SVEDBERG kitűnő tanítványa, Arne TISELIUS kapott megbízást arra, hogy a Faculty of sciences-en belül megalapítsa a Biokémiai Intézetet 1938-ban. Az Intézet vezetését 1968-ig ő maga látta el s ő kapta a 2. világháború utáni első svéd Nobel-díjat 1948-ban - az elektroforézis módszerének kidolgozásáért. Professzori székét egyik tanítványa, Jerker PORATH örökölte, akinek nevéhez nem kisebb módszerek kidolgozása tartozik, mint a Sephadex, a charge-transfer-, a kovalens-, az affinitás kromatográfia. Az Intézet 1969-ben újabb professzura alapítására kapott lehetőséget, amelyet a másik TISELIUS tanítvány, Stellan HJERTÉN nyert el, akinek működését - többek között a "free zone electrophoresis", az agaróz alapú gélmatrixok /Sephacrose, Biogel A/, a poliakrilamid alapú gélek /Sephacryl, Biogel P/, a gélkromatográfia termodinamikai alapon nyugvó elméleti interpretációjának kidolgozása, a hidrofób interakciós kromatográfia kidolgozása fémjelzi. Mindezekből következik, hogy az Intézet tudományos profilja - ahogyan eddig is - jelenleg is az elválasztási módszerek kutatására irányul. A két Nobel-díjas, SVEDBERG és TISELIUS - tudományos zsenialitása mellett - kiváló gyakorlati tudománypolitikus is volt, hiszen a 2. világháború alatt, amikor a tudományos kutatáshoz szükséges műszerek és vegyszerek beszerzése még a semleges Svédországban is nehézségekbe ütközött, személyes kezdeményezésükre és közreműködésükkel alapították a PHARMACIA gyógyszergyáron belül a Pharmacia Fine Chemicals és az LKB gyárat. Ez utóbbihoz a kezdő tőkét - kettejük szervező tevékenysége nyomán - három kisvállalat, a Liljeholmens Stearinfabrik, a Kemabolagen Bärnende és egy stockholmi sörgyár, a Bryggerier adta össze. Ezek kezdőbetűiből állt össze a ma világszerte ismert LKB rövidítés. Az Intézet ma is mintaszerű kapcsolatban áll mindkét vállalattal. Ez az együttműködés a záloga annak, hogy az Intézet tudományos munkájával ki-

fejlesztett módszerek rendkívül gyorsan kereskedelmileg is elérhetővé váltak a világ minden érdeklődő kutatója számára.

A tanfolyam ideje alatt - a hagyományoknak megfelelően - mintegy nyolcvan elméleti előadás és nagyszámú gyakorlat és megbeszélés keretében ismerkedtünk meg a biokémiai elválasztások módszertanával. A kurzus 4 fejezetből tevődött össze. Először az elektroforetikus módszerekkel foglalkoztunk - mindenek előtt elméleti alapokat gyűjtve a módszer fizikai-kémiai elméleti hátterét jelentő "moving boundary" egyenlettel, az elektrokémiai kettősrétegek elméletével, a KOHLRAUSCH állandó és Smoluchowski egyenlet levezetésével. A laboratoriumi gyakorlatok során kísérleteket végeztünk SDS poliakrilamid gélelektroforézissel /Neville és Dobberstein szerint/ preparatív és analitikai kivitelben, kétdimenziós O'FARREL módszerrel, "free zone electrophoresissel", izatoforézissel, izoelektromos fókuszálással, agarózsuszpenziós elektroforézissel. Az immunoelektrokémiai módszerek közül a rakéta és az ún. kereszt-immunoelektroforézissel, a ZIA-val / zone immunoelectrophoresis assay / és változataikkal foglalkoztunk. Külön élmény volt kipróbálni TISELIUS egyik eredeti, egész szobát betöltő nagyságu "moving boundary" berendezését. Nagyon jó pedagógiai ötletnek bizonyult az, hogy a módszereket mindenkinek többször is végre kellett hajtania. Különösen hasznos volt az, hogy az ideális futtatási körülményektől eltérő, szándékosan rosszul megválasztott paraméterekkel dolgozva kipróbálhattuk, mi történik akkor, ha valami nem ideális, egy apró eltérés az elválásnak milyen torzulásait okozhatja.

Ezt a ciklust kromatográfiás sorozat követte, amelynek külön érdekességét az adta, hogy az elméleti előadást vagy a módszer felfedezője - többnyire az intézet korábbi munkatársa - vagy az egyik legjobb svéd szakértője tartotta. Nagy élmény volt hallani ROLF AXÉNt az agaróz-cianbromid aktiválásáról és a tiol-diszulfid kovalens /interchange/ kromatográfiáról, - vagy Tore KRISTIANSENt a lectin- és immunaffinitás kromatográfiáról. Ennek a ciklusnak számomra talán legmeglepőbb tanulsága a HPLC teljes "hatalomátvétele" volt, mind az analitikai mind a preparatív célú biokémiai tisztítási eljárások területén.

A harmadik fejezet a preparatív és analitikai ultracentrifugálási módszerekkel foglalkozott. Itt ismertük meg HAKAN PERTOFT-öt, aki a PERCOLL sűrűséggradiens mátrix kidolgozója volt és egyben kalauzunk a preparatív centrifugálási módszerek területén. Kemény munkát követelt az analitikai ultracentrifugálás elméletének, differenciálegyenleteinek megemésztése és elsajátítása, amit az MSE Centriscan és a Beckman E analitikai ultracentrifugákon végrehajtott kísérleteink értékeléséhez kellett megtanulnunk.

A kurzus negyedik, a másik három közé integrálódott része kiegészítő módszerekkel foglalkozott, mint pl.: radioimmunoassay, rádió-receptor-assay, spektrofluorimetria, molekulasúly meghatározás kissetűző fényszórással, DNS szekvenálás, biomolekulák ellenáramu megoszlással történő elválasztása, triptikus peptidek kétdimenziós elválasztása vékonyrétegeken, elektroforetikus készítmények hiperszenzitív ezüstfestése. A tanfolyam során üzemlátogatáson és minitanfolyamokon vettünk részt a Pharmacia, az LKB és a Varian cégek szervezésében, ahol kipróbálhattuk berendezéseiket.

A tanfolyamot ötórás, maratoni írásbeli vizsga zárta, amelynek harminchét, az előadók által összeállított kérdése igen alapos felkészültséget kívánt a jelöltektől. A vizsgának tizenegyen mertünk nekimenni és kilencen tettük le sikerrel.

Szállásunk az Egyetem flogstai diákvárosának kollégiumában volt, ahonnan minden reggel együtt sétáltunk át a félórányra lévő Biome-

dicinska Centrum-ba. Az eltöltött tíz hét alatt szakmai vitáinkban megannyi kedves baráttra találtunk az Uppsalai Egyetem falai között.

Végül javaslattal is kívánok élni s ez egyben magyarázat beszámoló megírására; intézményes támogatással kívánatos és ésszerű volna lehetővé tenni ezen a tanfolyamon a rendszeres magyar részvételt - talán éppen a Magyar Biokémiai Egyesület égisze alatt. A cél világos: kezdő kutatóink nemzetközi színvonalu módszertani felkészítése.

TIGYI GÁBOR

INTERNATIONAL WORKSHOP ON PROTEINASE ACTION

Debrecen, 1983. aug. 29-31.

Tizenegy országból érkezett, harmincöt résztvevővel folyt háromnapos, a proteínázok működésével és tulajdonságaival kapcsolatos eredményekről szóló vita. Az elhangzott 28 előadás négy témakör köré csoportosult:

1. A proteínáz működés általános problémái
2. Proteínázok szerepe a biológiai regulációban
3. Természetes proteínáz inhibitorok
4. Növényi és mikrobiális eredetű proteínázok

Az első problémakörhöz tartozó hét előadás közül három a proteolitikus enzimek működésével kapcsolatos mechanisztikus problémák részleteit igyekezett megvilágítani. Másik három előadó a plazminogén és plazmin szerkezetével és működésével összefüggő új eredményeket vitatta. Végül egy előadás számolt be a proteolitikus enzimeknek a peptidszintézisben való alkalmazhatóságáról.

A proteolitikus enzimek regulációs működését tárgyaló második témakörben az előadók elsősorban az intracelluláris, illetve a membránhoz kapcsolódó fehérjebontó enzimekkel foglalkoztak. Ez a fiatalabb ága a kutatási területnek és művelése sokkal több nehézséggel jár, mint az extracelluláris enzimek vizsgálata. Ebben a csoportba igen sokféle, olykor szövet-, sőt sejttípusonként is különböző enzim sorolható, amelyek mennyisége nem ritkán rendkívül csekély. A mennyiségi és technikai problémák ellenére ez a terület lendületesen fejlődik. Az újabb elért eredmények - a többi közt arról is tájékoztatnak, hogy mennyire meghatározó szerepe van egyes proteolitikus enzimeknek a sejtszaporodásban, a differenciálódásban és ebből adódóan a tumoros proliferáció kialakulásában.

A proteínáz inhibitorokkal foglalkozó 11 előadás nagyobb része az orvosi gyakorlatban felmerülő problémákat tárgyalta. - Bizonyos betegségek patomechanizmusa elsődlegesen a proteolitikus enzimek túlműködésének vagy éppen a megfelelő gátló anyag hiányának tudható be. Így például a tüdőtágulat tüneteinek kialakulásáért jelentős mértékben a fehérvérsejtekből kiszabaduló elasztinbontó enzim a felelős, amely lassan, de határozottan pusztítja a tüdő rugalmas rostjait. Normális esetben van elegendő inhibitor,

s meggátolja a proteolitikus enzimek szövetpusztító hatását. poros munkahelyen dolgozók, genetikusan hiányos inhibitorot termelő egyének és dohányosok esetén vagy a károsított, vagy az eredetileg is csökkent értékű inhibitor nem vagy csak alig alkalmas az elasztolitikus enzim és más proteázok gátlására, így azok akadálytalanul pusztítják a kötőszövetet és tönkre teszik a szervet. Ha nagy területre kiterjedő sérülések, műtétek után fertőzés lép fel, a szervezet védekező reakciója nyomán a keringésben megnő a leukocita-proteázok mennyisége. Ezek az enzimek károsan befolyásolják a sebgyógyulást, mert megtámadják és inaktíválják az alvadási rendszer fehérjéit. Ezekben az esetekben is lényegében a proteináz-inhibitor arány határozza meg a folyamat irányát. Így diagnosztikai szempontból fontos problémaként merült fel az, hogy egyes proteolitikus enzimek mennyisége a szérumban nem adható meg pontosan aktivitásuk alapján. Ugyanis kisebb-nagyobb részük inhibitorral kapcsolt komplex formájában, inaktív alakban van jelen. Ennek a kérdésnek a megoldására új eljárást ismertettek müncheni kollégák.

A negyedik témakörben tanulságos volt a vírus endoproteinázzal foglalkozó előadás, amely felvonultatta a modern biokémia és a génsebészet csaknem valamennyi fontos technikáját. A vírus nukleinsavban lévő információ magába foglalja a proteináz szintéziséhez szükséges üzenetet is. A vírusfehérjék folyamatos polipeptidláncként keletkeznek és csak a szintézis után hasadnak - fehérjebontó enzim hatására - annyi részre, amennyi a kérdéses típusra jellemző. A hasított peptidkötések / Tyr-Gly, Gln-Gly / számos vírusban azonosak - vagy hasonlóak.

A tudományos találkozó anyagát magába foglaló kötet az Akadémiai kiadó ígérete szerint 1984 első felében jelenik meg.

Egyesületünknek -ahogyan én tudom - ez a találkozó volt az első ilyen típusu nemzetközi rendezvénye. Ezért nem felesleges néhány tanulság levonása. - Szakmailag igen hasznosnak látszik a kislétszámú -/40 - 50 résztvevő/ összejövetel. Külföldiek is eljönnek, ha sikerül megfelelő programot javasolni. Nem túl fényes külországi utazási lehetőségeinkre tekintettel így fiatal kollégáink számára - kevesebb költséggel - tudjuk biztosítani azt, hogy friss, első kézből származó tudományos információkhoz jussanak. Ha a találkozó helyét jól választjuk meg, pl. valahol a periférián vagy hegytetőn vagy éppen egy erdő közepén /tehát olyan hely, amelynek rosszak a tömegközlekedési kapcsolatai/, az előadásokon legalább 80-90%-os látogatottságot érhetünk el. A résztvevők vannak olyan edzettek, hogy három napig ezt is kibírják.

Kulturális programként az egyik este nem koncertet, nem is táncbemutatót szerveztünk, hanem meglátogattuk az egyik balmazújvárosi mezőgazdasági Tsz-t. Az ötlet bizarrnak tűnhet, de a résztvevők nagy többsége, nem csak a nyugatiak, hanem a magunkfajta is, még soha nem volt ilyen helyen. Emellett, nyílt tűzön, bográcson főtt vacsorát adtak, ami szintén különlegesség /nem számítva azt, hogy aránylag olcsón usztuk meg/.

ELŐDI PÁL

A FEHÉRJE SZAKOSZTÁLY MUNKAÉRTEKEZLETE

T O K A J , 1983 szeptember 19-21

A munkaértekezlet programjában továbbképző jellegű referátumok és kiselőadások egyaránt helyet kaptak.

A Szerkezetvizsgálati módszerek című referátum-sorozat áttekin-
tette a fehérjék röntgendifrak-
ciós vizsgálatát / SIMON István és HAJDU János /, az NMR / GÁSPÁR
REZSŐ/ és a fluorimetriás gyorskinetikai módszerek / BATKE József /
felhasználását, valamint az ultracentrifuga alkalmazását /LAKATOS
Zsuzsanna/ makromolekulák kölcsönhatásának tanulmányozására.

A proteolitikus enzimek című témakörben néhány időszerű kérdés-
ről számolt be ELŐDI Pál, illetve a plazminogén aktivátor - plazmino-
gén rendszer szabályozásának molekuláris mechanizmusáról PATTHY László.
A szteroid receptorok limitált proteolíziséről ARÁNYI Péter, a
vázizmok proteínáz aktivitásáról SOHÁR István tartott referátumot. E
területhez még öt kiselőadás is kapcsolódott.

A fehérjefoszforiláció című referátum sorozatban BOT György is-
mertette a foszforiláció sokoldalú szere-
pét a sejt anyagcsere folyamatainak szabályozásában. A proteinkinázok
sokféleségéről, kiemelve a tirozin-oldallánc foszforilációjának je-
lentőségét, FARAGÓ Anna számolt be. Referátum hangzott el a defoszfo-
rilációt katalizáló foszfatázok szerkezetéről és regulációjáról /GER-
GELY Pál/, továbbá a fehérje foszforiláció jelentőségéről a szinap-
tikus plaszticitásban / FRIEDRICH Péter/. A referátumok témájához
kapcsolódó legújabb hazai kutatásokat négy kiselőadás mutatta be.

Az élelmiszerbiokémia területéről hat kiselőadás hangzott el és
néhány kiselőadás fehérjeanalitikai, elválasztás-technikai kérdések-
kel foglalkozott.

A munkaértekezlet hasznos szakmai fóruma volt a hazai biokémiku-
sok ama csoportjának, akik a fehérjék, illetve az enzimek szerkezeté-
nek, kölcsönhatásának és átalakulásának kérdéseivel foglalkoznak.

GERGELY PÁL

München 10. - 13.4.1984

BIOCHEMISCHE ANALYTIK 84

INTERNATIONALE TAGUNG FÜR BIOCHEMISCHE UND INSTRUMENTELLE ANALYSE

INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIOCHEMICAL AND INSTRUMENTAL ANALYSIS

Fees

- Whole conference: DM 120,— (DM 150,— after 1.3.1984)
(includes complete conference material)
- Day Ticket: DM 40,— (includes conference guide)
- Student day ticket: DM 15,— (includes conference guide)

Prize Biochemical Analysis 1984

The above prize will be awarded during the conference.
More information for competitors may be obtained from:
Prof. Dr. Dr. I. Trautsohd, Medizinische Hochschule
Hannover, Zentrum Biochemie, Abt. Klinische Biochemie,
Konstanty-Gutschow-Strasse 8, D-3000 Hannover 61.

HIREK ÉS ESEMÉNYEK

Hári Pál halálának félévszázados évfordulója alkalmából egyik tanítványa, SZÉKÁCS István dr. emlékezik tanító-mesterére. /Orvosi Hetilap 124/31/1889 /1983/.

HÁRI Pál, a budapesti pázmány péter tudományegyetem Orvosi Kara Élet- és Kórvegytani Intézetének igazgatója, hosszú ideig volt egyetlen magyar tagja az egyik első biokémiai szakfolyóirat, a Biochemische Zeitschrift szerkesztő Bizottságának. Korának klasszikus módszertani gyűjteményébe, az „ABDERHALDEN”-be /Biologische Arbeitsmethoden/ ő írta az elektrokompenzációs kalorimetria fejezetét. Oktató és nevelő munkájának nemzetközi elismeréseként a J. SPRINGER kiadó 10 év alatt 4 kiadásban jelentette meg a LEHRBUCH der physiologischen Chemie című tankönyvét. HÁRI professzor iskola alapító tevékenységét így idézi fel SZÉKÁCS dr.: Mindnyájan azonosultunk egymással a természettudományok iránti érdeklődésben, a tudományos igazsághoz való viszonyunkban, amelynek gyújtópontja mindenkor a professzor személye volt. „...nem volt irigység, féltékenység, mindenki munkája közös érdeklődés fókuszában állott, közös gondot és örömet jelentett. Ebben a légkörben minden elképzelhető segítséget megadtak egymásnak az ott dolgozók.”

HÁRI PÁL emlékére Egyesületünk egyik elődje, a Magyar Biokémiai Társaság emlékérmét alapított. A Magyar Biokémiai Egyesület őrzi a haladó hagyományt és időről időre HÁRI Pál emlékéremmel tünteti ki azokat, akik a biokémiai tudomány hazai művelésében és oktatásában kimagasló eredményt értek el.

-yl-

oo8oo

- A tudomány kulcs a világ titkaihoz.

GORKIJ

- A tudományok feladata szolgálat : a jólét elérésének eszközei.

MENGYELEJEV

- AZ ember a tudomány segítségével képes kijavítani saját természetének tökéletlenségét.

MECSNYIKOV

- AZ én hitem hit abban, hogy az emberiség számára a tudomány haladása nyújt boldogságot.

PAVLOV

oo8oo

MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET
 a MTESZ tagja
 Bp.VI., Anker köz 1-3., 1061
 Telefon: 222-602

P Á L Y Á Z A T I F E L H I V Á S

a moszkvai FEBS-re

A Magyar Biokémiai Egyesület vezetősége pályázatot hirdet fiatal biokémikusok részére forint támogatásra, hogy a moszkvai 16.FEBS kongresszuson 1984. június 25-30 között előadással, poszterrel részt vegyenek. Meghirdetünk

tiz pályadíjat,
egy pályadíj 5 - 10 ezer forint.

Pályázhatnak a 35 év alatti (kivételes esetben 40 év alatti) egyesületi tagok, akik előadást (abstractot) jelentettek be az 1984.évi FEBS-re, és nevük a határidő előtt (1984.január 15.!) elküldött abstractban első szerzőként szerepel. A pályázatot 1984.február 15-ig kell beküldeni az Egyesület titkárságára. A pályázatban fel kell tüntetni a pályázó beosztását, egyetemi végzettségét, diploma megszerzésének évét, születési évét, munkahelye címét és telefonját. Mellékelni kell az intézet/munkahely vezetőjének ajánlását, abstractot 5 példányban, az abstract moszkvai beérkezéséről szóló igazolás másolatát és a részvételi díj befizetéséről szóló igazolás másolatát.

A pályázat feltétele, hogy a pályázó más szervtől kiküldetésben vagy támogatásban nem részesül/t. Ha egy munkacsoportból többen jelentettek be előadást, az Egyesület csak egy fő részvételét támogatja. A pályadíj feltétele még, hogy a pályázó az Egyesület által szervezett csoportos utazás keretében vesz részt a moszkvai FEBS-en.

A pályázat eredményéről a nyerteseket 1984. március 31-ig értesítjük. Amennyiben a pályadíjat nyert személy a kongresszuson nem vesz részt vagy nem kielégítően szerepel, akkor az Egyesület vezetősége a pályadíj jogát a rangsorban után következőre ruházza át.

Budapest, 1983. november

Szabolcsi Gertrud, sk.
 elnök

Hidvégi Egon, sk.
 főtítkár

Egyesületünk ideiglenes GAZDASÁGI BIZOTTSÁGA szeptemberi ülésén megvitatta tevékenységének főbb irányait és legfontosabb feladatait a következőkben határozta meg :

- az elfekvő, inkurrens anyagok feltérképezése, cseréje és esetleges forgalmazása;
- az Egyesület tagjai által folytatott külső tevékenység felmérése és koordinálása;
- javaslat készítése termék-orientált munkaközösség létrehozására.

Az Egyesületünkön belüli, a tagok közti széleskörű információcsere bizonyosan kedvezően hat majd a kutatómunka feltételeire és körülményeire. Ezt szolgálja az enzimek, szubsztrátumok és egyéb finom vegyszerek iránti kereslet és kínálat felmérése éppen úgy, mint a **hazai** sejtkultúra vonalak, mikroorganizmus törzsek, valamint műszerek és műszeralkatrészek számbavétele. Segíteni kíván a Bizottság a tápfoliadékellátásban is és igyekszik előmozdítani a biokémikusok elhelyezkedését és álláscseréjét.

A MTESZ Szakértő Iroda szervezete és jogállása azt is lehetővé teszi, hogy Egyesületünk a fentiekben felsorolt ügyek menetét szervezze, irányítsa, sőt találmány, szabadalom tulajdonosa legyen.

ANTONI Ferenc és HIDVÉGI Egon



Federation of European Biochemical Societies
FEBS ADVANCED COURSE AND WORKSHOP Nr. 84/06
BIOMOLECULAR ELECTRON MICROSCOPY

BIOMOLEM 1984

at the University of Ulm, D-7900 Ulm, Germany, April 5 to April 14, 1984

Organized by Drs. A.K. Kleinschmidt, G. Klotz (Secretary), with
H. Gruler, R. Martin, Ch. Pilgrim.

The fee is 750.-- Deutsche Mark which is payable upon notice in advance. It includes accomodation and meals at Schloß Reisenburg. A very small number of Fellowships will be available for support of living and/or travel expenses. Students may ask for FEBS Youth Travel Fund.

Applicants should give a short account for their background and experience (it may include a curriculum vitae) and should describe their reasons for taking the course. They may indicate plans in laboratory work for the future. Proficiency in English will be required. The names and addresses of (a) referee(s) can be added. Application forms are available and should be sent, latest February 1st 1984 to Dr. G. Klotz Department of Virology, University of Ulm, D-7900 Ulm, Postfach 4066, Tel. (0731) 1762687/81.

Jelentkezési lap főtitkárunktól igényelhető /Tel.:386-918/