

BIOKÉMIA

A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET TÁJÉKOZTATÓJA
VIII.évf.1.szám 1984 március

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

+

Ezt a számunkat KELETI Tamás, FRIEDRICH Péter és
BAGDY Dániel szerkesztette.

+

A tartalomról :

STRAUB F.BRUNÓ köszöntése

Dévényi Tibor : Régmúlt találkozásaim S.F.B.-val.

Elődi Pál : Na és..?

Friedrich Péter : Az alfa-amiláztól a buta muslicáig.

Gárdos György : Straub F.Brunó és a membránkutatás.

Keleti Tamás : Az első 70 év második 35 éve.

Patthy László : Fehérje-szerkezet, fehérje-funkció.

Polgár László : A peptidkötés hasítása : változatok
egy témára. Szerin- és cisztein-
proteázok.

Venetianer Pál : Amit nem lehet megtanulni.

Wollemann Mária : Az eltűnt idő nyomában.

Závodszy Péter : Fehérjék térszerkezetének egyensúlyi
dinamikája. A környezeti hatások által
keltett szerkezetváltozások mechanizmusa.

+

S z a k o s z t á l y i é l e t

Wollemann Mária és Huszti Zsuzsa : A neurobiokémiai
szakcsoport 1984.évi programajánlata.

Szentirmai Attila : A szteroidbiokémiai szakcsoport
munkaértekezlete.

+

H i r e k és e s e m é n y e k

Szabolcsi Gertrud : Felhívás anyanyelvi közlésre

- Pályázati felhívások -

- 13th International Congress of Biochemistry, 1985.

Az ünnepekkel való első találkozásaink bizonyosan nem véletlenül a születésnapokat idézik fel, az élet megújulásának ünnepeit. A démokritoszi gondolat szerint ezek a valóságban is vendégfogadók az életutakon. Az évfordulókon legalább néhányan mindenkit megkeresnek vagy felkeresnek, az ember társadalmi létének szükségességét ilyenkor az öröm ritka érzése fényesíti meg. Azok születésnapja pedig, akik alkotó munkájukkal nagyobb emberi közösségek javára is vannak, sokak számára válhat eszméltető évfordulóvá, jövőbe mutató ünnepé. Tanítványai, munkatársai és mindazok, akik csak rövidebb időre kerültek Vele munkakapcsolatba, ilyennek látják STRAUB F. Brunó születésnapját.



STRAUB professzor igen sokrétű tudományos és tudományos közéleti tevékenysége közben döntő szerepet vállalt a hazai biokémikusok első önálló társadalmi szervezete, a Magyar Biokémiai Társaság megalapításában, majd aktív tagjaként szóban és írásban fáradozott a Társaság életének és nemzetközi kapcsolatainak fejlesztésén. Amikor pedig megérett az idő az egységes szervezet megteremtésére, ama kevesek közé tartozott, akik egyértelmű állásfoglalásukkal segítették elő megalósítását.

Egyesületünk elnöksége, tagsága és lapunk szerkesztő bizottsága nevében ezért tisztelettel köszöntjük 70. születésnapján. Jókívánásainkban nem titkoljuk természetesen önzésünket : Segítő készségére a jövőben is szeretnénk számítani.

GUBA Ferenc BAGDY Dániel
a MBE alelnöke fel.szerkesztő

Sonderabdruck aus Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiolog. Chem. 244. Bd. (1936).

Über die Bedeutung der Fumarsäure für die tierische Gewebsatmung.

III. Mitteilung¹⁾.

Von

**E. Annau, I. Banga, A. Blazsó, V. Bruckner, K. Lakó, F. B. Straub
und A. Szent-Györgyi.**

Mit 5 + 2 + 2 + 1 = 10 Figuren im Text.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie, Universität Szeged.)

(Der Schriftleitung zugegangen am 11. August 1936.)

Über die Bedeutung der Fumarsäure für die tierische Gewebsatmung. 117

Quantitative Methoden zur Untersuchung der Fumarsäurekatalyse.

Von

F. B. Straub.

Mit 5 Figuren im Text.

Bestimmung der BRS. mit Salicylaldehyd^{1,2)}.

Reagentien: 1. 2 Vol.-Prozent Salicylaldehyd (synth. Kahlbaum) in 100 ml 96%igem Alkohol. 2. KOH-Lösung, hergestellt aus 100 g KOH und 60 ml Wasser.

Ausführung der Reaktion: Zu 1 ml der zu untersuchenden, mit Wolframsäure-Schwefelsäure entweißten Muskelsuspension — die nicht mehr als 0,5 mg BRS. enthalten soll (enthält sie mehr, so muß sie mit Wasser entsprechend verdünnt werden) — wird 1 ml KOH und 0,5 ml Salicylaldehyd-Lösung gegeben, gründlich durchgeschüttelt und im Wasserbade von 37° 10 Minuten lang gehalten. Dann wird auf Zimmertemperatur abgekühlt, vom ausgeschiedenen Kaliumsulfat zentrifugiert und binnen 1 Stunde colorimetriert. (Zur Colorimetrierung gebrauchten wir stets das Pulfrich-Stufenphotometer von Zeiss und eine Küvette von 0,1 cm Dicke). Ist auch OES. anwesend, so muß man nach Abschluß des Versuches die Reaktion möglichst rasch ausführen, da sonst die OES. zu BRS. decarboxyliert wird. Bei stark alkalischer Reaktion, nach Zufügen der Lauge, ist die OES. stabil.

BRS. = Brenztraubensäure. FS. = Fumarsäure.
OES. = Oxalessäure. AS. = Äpfelsäure.
FAS. = Fumar- plus Äpfelsäure³⁾.

Régmúlt találkozásaim S.F.B.-al.

A rák-betegség problémáját 1949 tavaszán oldottam meg. Nagy önbizalommal számoltam be akkori főnökömnek, P.G.-nak az örömteli eseményről: Egy egeret be kell kenni benzpirénnel, majd pár nap várakozás után fel kell transzírozni a szerencsétlent és szerveit papírkromatográfiával vizsgálni.

P.G. arca eltorzult a transzírozás hallatára. Mindez a Szerveskémiai Intézet parányi, adjunktusi laborjában zajlott. P.G. néhány perc múlva réccsentett:

- Menj át Straubhoz és Neki mondd el ezt az egészet!

Nem kellett több biztatás. Ugy hírllett, Straubhoz nem nehéz bejutni, így már másnap előtte álltam. Feltűnt, hogy nem is idősebb mint én, pedig én díjtalan demonstrátor, Ő meg az Orvosvegytani Intézet profja volt!... Feszengtem, hol is kezdjem,- de S.F.B. gyorsan helyretett:

- Kezdje a lényegnél!

Éppen ez volt a bökkenő, hiszen elméletemnek MINDEN mondata szerintem lényeges volt. Azt mindenesetre nagyra értékeltem, hogy amikor a feltranszírozáshoz értem, S.F.B. szeme sem rebbent. Végre egy szakember!- gondoltam. Nagy nehezen a mondókám végéhez értem. Vártam a hatást. Nem is maradt el.

- Maga tud papírkromatografálni? - kérdezte S.F.B. röviden.

Akkor már napok óta figyeltem, hogy P.G. hogy csinálja. Addig jól láttam, hogy minden féle hókusz-pókusz után a szűrőpapírt hogyan és mibe rakja. Hogy utána mit kezd vele nem tudtam, mert mindig valami közbejött, nem tudtam megfigyelni. Így határozott választ adtam:

- Persze, hogy tudok!

Az első találkozás ezzel nem ért véget, sőt,- ezután következett a meglepetés, mert S.F.B. pár pillanat hallgatás után megkérdezte:

- Akar nálam dolgozni?

Erre, akkor, minden épeszü ember csak egyet válaszolt volna, hiszen ez a kérdés egy picit Nóbeldíjjal volt egyenértékű. Én, a Nagy Szerveskémikus - aki a nitrobenzolnál bonyolultabb vegyületet még nem szintetizált - zavaromban azt mondtam:

- Igen, de előbb megtanulom a biokémiát.

S.F.B. nem sokat szólt, csak annyit, hogy "Hm". El lettem bocsájtva...

Egy év múlva a Szörényi-intézetbe kerültem. A biokémiát nem tudtam mindjárt megtanulni, mert szinte azonnal a végcsoport-analitikával kezdtem

foglalkozni. De néhány röpké év múlva már sor kerülhetett S.F.B.-al a második találkozóra. Ezúttal esélyeink még egyenlőtlenebbek voltak, noha most egy asztalnál ültünk. De én az asztal rossz oldalán. Mint aspiráns u.i. S.F.B.-nál vizsgáztam biokémiából. Ezekben az években, az ötvenes évek elején a biokémia bibliája egy két kötetes, piros kötésű könyv volt a foszfor-metabolizmusról.

Egyszerűen behifláztuk. És még sok minden mást. Ugy tudtuk a "biokémiát", hogy csak na. Három kérdést kaptam. Két nagyot és egy kicsit. Már fogalmam sincs, hogy mik voltak a nagyok. De a kicsit, azt magammal vittem egész életemben. Mert S.F.B. tudott kérdezni. Azt kérdezte, mi az az "alma-enzim". Ez egy kis beugratós játék volt. De tudtam. Véletlenül. A piros könyvekből. De szívesen láthatóan értékelte is a feleletet, ami az adott helyzetben borzasztó sokat jelentett. Bár ma tudnám, hogy mi is az az alma-enzim. Egyáltalán meg van-e még, vagy elmosta a Nagy Felismerések Áradata?.....

A vizsgára behiflázott biokémiai ismeret-anyag egyébként az a két alatt kiürült.

Szörényi távozása megzavart bennünket. Én egyszerűen kaphadni kezdtem és olyasmivel foglalkoztam, amirehöz tulajdonképpen semmi sem kötött. Így készült el életem első ízig-vérig biokémiai dolgozata, mely a leukociták fagocitózisáról szólt. Másfél gépelt oldal volt. Tömör. Olyasmi, mint egy matematikus vagy fizikus cikke, ha nagyon sok mondanivalója van. Elfogódottan adtam át kéziratomat S.F.B.-nak. Már másnap vissza is adta. Rövid beszélgetés fűszerezte harmadik találkozásunkat:

S.F.B.: - Hm, olyan mint egy lapososont.

D.T.: - ??????

S.F.B.: - Rövid, de nem velős.

Ja, még azt is megjegyezte, hogy a kritika akkor jó, ha ráj

Hát ebből, akkor nem lett cikk. Csak sok év múlva. Sőt, még nőtt is.

Az Ezésez Gézában.....

Ez a három régmúlt találkozás meghatározó nyomot hagyott bennem.

Nem sokkal később már nap mint nap találkoztunk. Mostanában is.

Remélem, még sokáig.

Na és..?

Vagy harminc éve történt. Fiatalok voltunk, lelkesek és nagyon zseniálisak. Úgy gondoltuk, hogy nekünk jut osztályrészül, hogy mindent felfedezzünk. De az ötvenes évek elejének légköre is azt sugallta, hogy mi különös emberek vagyunk. Az intézet igazgatója, Szörényi Imre vagy másfél éve feküdt betegen Kievdn. Az Akadémia Straub akadémikust bízta meg azzal, hogy felügyeljen ránk és alkalmanként jó tanácsaival helyre igazítson. Helyszükében éltünk akkoriban. Számomra is csak úgy jutott hely egy kicsiny laboratóriumban, hogy egy másik kollégával, akit inkognitója megőrzése érdekében nevezünk, mondjuk Ezésez Tibornak, meg kellett osztanom. De akkor még jól megfértünk szűk helyen is.

Szobatársam nagy tempóval dolgozott, tett-vett és napról-napra eufóriásabbnak látszott. El is magyarázta, hogy milyen nagyszerű dolgot fedezett fel, de én -az igazat megvallva- kevésbé értettem.

Közeledett a szokásos megbízott igazgatói látogatás. Tibor barátom előzetesen még telefonon is megbeszélte Straub professzorral, hogy hosszassabban szeretné legújabb felfedezéseit ismertetni és számíton erre.

A látogatást megelőző hét a szokottnál is lázasabb tevékenységgel telt. Készültek a táblázatok, grafikonok, görbék és egyenesek -többségük többszínű kivitelben-, mikroszkópi preparátumok és minden egyéb, aminek ilyenkor készülnie kellett. A látogatást megelőző napokban már az én munkahelyem egy részét is elborította a dokumentáció. Jobbnak láttam, hogy arra a néhány napra elvonuljak a könyvtárba.

Az ember gyarló, magam sem vagyok kivétel. Kíváncsi voltam, hogy mi lesz a nagy előkészület eredménye. Mikor Straub professzor megérkezett, visszasompolyogtam az íróasztalomhoz és meglapulva hallgattam.

Kétségtelen, hogy a beszámolót Tibor mesterien építette fel.

A legromantikussabb zeneszerző is megirigyelne egy olyan crescendot, amely egy mű elején kezdődik és a végéig megszakítás nélkül tart. Ilyen volt a beszámoló. Kezdődött néhány banális általánossággal, majd jött az első, talán nem is különösen érdekes kérdés. Ezután egy furfangos csavarral egy igen izgató probléma vetődött fel és ezt mindjárt követte a válasz. Straub professzor csak ült és figyelt. Időnként megjegyezte:

-Igen.- (az n néma, ugyanúgy, mint Psmith-ben a p)

Egymást követték a táblázatok, kenetek, görbék és minden egyéb, ami az asztalon volt. Csak azt csodáltam, hogy abban a rettenetes halomban, hogyan ismerte ki magát Tiborom. Láthatólag jól, mert minden az elképzelt forgatókönyv szerint történt. Az egyes hatásszünetekben hangzott fel az ostinató koppannó -igen, igen.-

Érezhetően a csúcs felé közeleedtünk, a légkör egyre feszültebbé vált, Tibor mozdulatai egyre gyorsabbak lettek, a kopogó igenek mind sűrűbben követték egymást. Már érezni lehetett, hogy következik a csúcs. Tibor arcán az átszellemülés jelei mutatkoztak, ezt követte az utolsó nagy koncentráció, végül egy mély lélegzet, majd a poén. Ezt Straub professzor is érezte, mert most a szokottnál később érkezett az igen. Elgondolkozott egy darabig, majd ránézett a még mindig révületben lévő Tiborra és megszólalt:

-Igen... na és?

Hát így kezdtük.

AZ ALFA-AMILÁZTÓL A BUTA MUSLICÁIG

Egy híján harminc esztendeje ismerem Straub F. Brunó professzort. Ismeretségünk kezdetben egyoldalú volt: mint medikus, illő áhitattal hallgattam kémiai előadásait és bámultam memóriáját, hogy hónapok múlva is emlékezett évfolyamtársaim nevére, akik óra alatt mással foglalkoztak a Gólyavár hátsó padsoraiban. Egy évvel később már szűkebb körben szólt hozzánk, az Orvosi Vegytani Intézet kezdő externistáihoz: "Ne várják, hogy kényeztessük magukat. Hiszen azzal, hogy idejönnek, zavarnak bennünket. De ha vinni akarják valamire, ne hagyják magukat lerázni." Megfogadtam tanácsát és ennek köszönhetem, hogy most írhatok róla.

Pontosabban nem is róla. Egy emberöltő tapasztalata megtanított, Straub F. Brunó nem szereti, ha személyével foglalkoznak. Ezért inkább magamról írok. Igénytelen történetem ugyan nem mérhető a jubiléuméhoz, de adalékul szolgálhat az összképhez, miként hatott Straub professzor a magyar biokémia és azon belül számos biokémikus fejlődésére.

Egyetemistaként öt éven át serénykedtem az OVI-ban, mint externista, majd dijas demonstrátor. Gyakorlatot vezettem és botladozó kísérletekben igyekeztem elsajátítani a szakma fortélyait, megérteni, mi foglalkoztatja az intézet kutatóit. Az egyik központi téma ekkor a fehérjeszintézis volt. Pankreász-szeletben vizsgálták az alfa-amiláz és baktériumokban az induktív enzimszintézist. Az első módszer, amit megtanultam, az amiláz aktivitásmérése volt. Több napig verejtékeztem a JBC nyul farknyi metodikai leírásán és bámultam a sok zsenit, akik mindezt kapásból megértik, pedig angolul is van! Később - némi tapasztalatszerzés után - proflavin hatását vizsgáltam az E. coli béta-galaktozidáz szintézisére. Erről tartott TDK-beszámolómról Straub professzor is eljött. Első nyilvános fellépésem és az illusztris hallgatóság ugyancsak felfokozta ambícióm. Nem is eredménytelenül: díjat nyertem és Straub professzor rám mutatva, így szólt az egyik senior kutatóhoz: "Látja, így kell előadni!" Elismerése szárnyakat adott és azóta is igyekszem erre méltónak lenni. /Bevallom, ez nem mindig sikerült. Egy hebehurgyán összeállított, indiszponált "fellépésem" után Straub professzor megkeresett: "Nem tetszett az előadása!" - mondta. Megtanultam: mint az emberi cselekvés bármely területén, a bizonyításnak itt is folyamatosnak kell lennie. /

Az egyetem elvégzése után a sors szeszélye egy vidéki kórház laboratóriumába száműzött. Nagyon el voltam keseredve. Mások csinálják a tu-

dományt, én meg naphosszat számolom a vörösvérsejteket! Egyik panaszos levelet irtam a másik után Straub professzornak. Ifjonti mértékletességgel Michelangelo-hoz hasonlítottam magam, amint széklábat farag. Bánatomban lakószobám falára pingáltam az inzulin alfa-láncának aminosav-sorrendjét. Érdeemes volt a polipeptidláncot a falra festeni! Alig lettem kész, értesítés jött Straub professzortól: 11 havi időtartamra szerződéses állást kínál a MTA Biokémiai /ma: Enzimológiai/ Intézetében; jövök-e? Hanyatt-homlok jöttem. Azóta is itt vagyok.

A glicerin-aldehid-3-foszfát dehidrogenáz /GAPD/ enzimmel kezdtem, mint a régi Karolina-uton csaknem mindenki. Nekem is sikerült belőle egy kandidátusi értekezésre-valót kihasítani, pedig témám nem a limitált proteolízis volt. Aztán feltűnt, hogy GAPD és társai oligomér enzimek. Izgatni kezdett, mire jó a negyedleges szerkezet, ha egy enzim történetesen nem allosztérikus. Ilyennek tűnt az aldoláz. Kell-e a tetramér szerkezet az aldoláz aktivitásához? Ezt próbáltuk eldönteni, de a kanadai W.W.-C. Chan megelőzött: szellemes módszerrel kimutatta, hogy nem kell. Ehhez mi annyit tudtunk hozzátenni, hogy a negyedleges szerkezet az alegységek stabilitását fokozza /1, 2/.

Milyen egy tetramér? Elvileg kétféle szabályos szerkezet képzelhető el: C_4 szimmetriájú "heterológ" és D_2 szimmetriájú "izológ". Az elsőben egy fajta, az utóbbiban két vagy három fajta alegység-kontaktus van. Ugy gondoltuk, e különbség alapján ezen szerkezetek megkülönböztethetők lehetnek egyszerű kémiai eljárással: bifunkciós reagenssel való keresztkötéssel. Megszintetizáltuk a diimidátok homológ sorát és a legelső kísérlet máris igazolta várakozásunkat: a rövidebb reagensek csak dimérig, a hosszabbak tetramérig vitték a keresztkötést aldolázban. Az aldoláz tehát D_2 szimmetriájú. Hej, ha minden első kísérlet így sikerülne! Kidolgoztuk, hogyan lehet a keresztkötési kép kvantitatív elemzéséből következtetni az alegység-elrendeződésre /3, 4/, illetve az oligoméren belüli szerkezet-változásokra /5, 6/. Straub professzor, látva buzgalmunkat, megkérdezte: "Maguk most már mindent keresztbe fognak kötni?"

Nem tettünk így. Már azért sem, mert jobban izgatott, ami az enzimszerveződésben a negyedleges szerkezeten túl van: a supra-molekuláris. Hogyan működnek az enzimek egymás és a többi sejt-alkatrész társaságában? A metabolit-kompartimentációt vizsgáltuk az "enzim-szonda" módszerrel, amelyhez hasonlót mások is alkalmaztak már, de mi neveztük el /7, 8/. Megállapítottuk néhány glikolitikus enzim és a vörösvérsejt membrán intim kapcsolatát /9, 10/, ami egy membrán alatti glikolitikus "héj" létére utal.

Az enzimek negyedleges és szupramolekuláris szerveződése annyira befészkelte magát a fejembe, hogy éreztem, csak úgy szabadulhatok tőle, ha könyvet írok róla. Mikor Straub professzorral közöltem szándékomat, elgondolkodva nézett rám: "Jól megfontolta a dolgot? Ilyet csak egyszer csinál az ember életében." Akkor nem értettem, miért ily kishitű. Ma, négy évvel öregebben és "bő" karnyújtásnyira a könyv /11/ megjelenésétől, már tudom: nem volt kishitű, csak tárgyilagos.

Straub F. Brunó tudományos alkotásai között kimagaslik - már méreteinél fogva is - a Szegedi Biológiai Központ. Ennek interdiszciplináris levegője fertőzött meg, amikor belevágtunk a *Drosophila melanogaster* dunce mutánsainak vizsgálatába /12/. Ezek a muslicák születetten buták és hiányzik belőlük egy cAMP-foszfodiészteráz izoenzim. Feltételezzük - más példák alapján - hogy a cAMP anyagcsere összefügg az emléknym képződésével illetve eltűnésével. E fogas problémát genetikusokkal, elektrofiziológusokkal, neuroanatómusokkal, immunológusokkal és másokkal karöltve próbáljuk megközelíteni. Sikerülni fog? Nem tudom. De azt tudom, hogy a "straubi" szellemben járunk el, ha nagyot akarunk, ha leküzdjük más diszciplináktól való viszolygásunkat és magunkban a szellemi restséget.

Az évforduló alkalmából kívánom - saját érdekünkben - hogy Straub professzor még hosszú időn át legyen aktív tanuja erőfeszítéseinknek.

FRIEDRICH Péter

1. Friedrich, P., Arányi, P., Nagy, I.: Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 7, 11-19 /1972/
2. Friedrich, P., Nagy, I., Arányi, P.: Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 8, 1-7 /1973/
3. Hajdu, J., Bartha, F., Friedrich, P.: Eur. J. Biochem. 68, 373-383 /1976/
4. Friedrich, P., Hajdu, J., Bartha, F.: Proc. 12th FEBS Meeting, 52, 239-248 /1978/
5. Hajdu, J., Dombrádi, V., Bot, G., Friedrich, P.: Biochemistry 18, 4037-4041 /1979/
6. Dombrádi, V., Hajdu, J., Bot, G., Friedrich, P.: Biochemistry 19, 2295-2299 /1980/
7. Friedrich, P., Apró-Kovács, V.A., Solti, M.: FEBS Lett. 84, 183-186 /1977/

8. Solti, M., Friedrich, P.: Eur. J. Biochem. 95, 551-559 /1979/
9. Solti, M., Friedrich, P.: Mol. Cell. Biochem. 10, 145-152
/1976/
10. Solti, M., Bartha, F., Halász, N., Tóth, G., Sirokmán, F.,
Friedrich, P.: J. Biol. Chem. 256, 9260-9265 /1981/
11. Friedrich, P.: Enzymes: Quaternary Structure and Beyond. An
Introduction to Supramolecular Enzyme Organization. Aka-
démiai Kiadó - Pergamon Press, 1983.
12. Solti, M., Dévay, P., Kiss, I., Londesborough, J., Friedrich, P.:
Biochem. Biophys. Res. Commun. 111, 652-658 /1983/



Sonderabdruck aus Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiolog. Chem. 254. Bd. (1938).

Über die dehydrierende Autoxydation und die biologischen Oxydationen*).

Von

I. Banga, M. Gerendás, K. Laki, G. Papp, E. Porges, F. B. Straub
und A. Szent-Györgyi.

Mit 2 + 8 + 2 + 2 + 1 = 15 Figuren im Text.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität Szeged.)

(Der Schriftleitung zugegangen am 7. Juni 1938.)

VI. Die Oxydoreduktion zwischen Ascorbinsäure und Methylenblau.

Von

F. B. Straub.

Mit 2 Figuren im Text.

Dehydrierende Autoxydation und biologische Oxydationen. 205

VIII. Beitrag zur Existenz der Ascorbinsäureoxydase.

Von

F. B. Straub.

58. CRYSTALLINE LACTIC DEHYDROGENASE FROM HEART MUSCLE

By FERENC BRUNO STRAUB

*From the Molleno Institute, Cambridge, England, and the Institute
of Medical Chemistry, Szeged, Hungary*

(Received 10 January 1940)

THE reduction of methylene blue by lactic acid, or in other words, the dehydrogenation of lactic acid in the presence of extracts from animal tissues, is now known to be catalysed by a system composed of two enzymes (lactic dehydrogenase and diaphorase flavoprotein) and cozymase [Dewan & Green, 1938; Euler & Hellström, 1938]. The chemical reactions involved in this process may be written [Corran *et al.* 1939]:

- (1) Lactic acid + cozymase \rightleftharpoons pyruvic acid + reduced cozymase.
- (2) Reduced cozymase + flavoprotein \rightarrow cozymase + reduced flavoprotein.
- (3) Reduced flavoprotein + methylene blue \rightarrow flavoprotein + leucomethylene blue.

Reactions (2) and (3) have been described in an earlier paper [Corran *et al.* 1939] and it was shown that the flavoprotein which catalyses these reactions can be isolated from animal tissues [Straub, 1939].

Reaction (1) is catalysed by an enzyme, which can be extracted with distilled water from the tissues. The equilibrium of the reversible reaction (1) is very much in favour of lactic acid formation [Euler *et al.* 1937]. Its action is similar to that of alcohol dehydrogenase (acetaldehyde reductase of Negelein & Wulff [1937]), an enzyme, isolated from yeast, which catalyses the reduction of cozymase by ethyl alcohol and the oxidation of reduced cozymase by acetaldehyde. Our enzyme can therefore be considered either as lactic dehydrogenase or as pyruvic reductase.

But its most important function is the part it plays in the lactic fermentation, being the enzyme which catalyses the last step of lactic fermentation, i.e. the reduction of pyruvic acid to lactic acid.

In order to study the kinetics of these enzymic reactions it seemed desirable to isolate the components. In the present paper the isolation of lactic dehydrogenase in crystalline form is described.

Catalytic test

The purity of the enzyme preparations was determined throughout this work by the "lactic test" as devised by Green & Brosteaux [1936]. This test consists in the measurement of the O_2 uptake which occurs when lactic dehydrogenase is added to a mixture of lactic acid, cozymase, methylene blue, strong cyanide and flavoprotein. The purified flavoprotein was prepared from bullocks' hearts according to the method described in an earlier paper [Straub, 1939]. If any one of these ingredients was omitted no O_2 uptake could be detected. The test can be used as a measure of the quantity of lactic dehydrogenase only if care is taken to make the latter the limiting factor. All the other reactants are therefore taken in large excess and only small O_2 uptakes are measured, e.g. when using

ACTA PHYSIOLOGICA
ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

TOMUS III. FASCICULI 3—4.

DIE ADENOSINTRIPHOSPHATASE DER ROTEN
BLUTKÖRPERCHEN

Von

T. GARZÓ, Á. ULLMANN und F. B. STRAUB

MEDIZINISCH-CHEMISCHES INSTITUT DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT, BUDAPEST UND
ELEKTRONENMIKROSKOPISCHES LABORATORIUM DER UNGARISCHEN AKADEMIE
DER WISSENSCHAFTEN, BUDAPEST

(Eingegangen: am 12. Mai 1952)

TOMUS III. FASCICULI 3—4.

ÜBER DEN MECHANISMUS
DER OSMOTISCHEN HÄMOLYSE

M. SZÉKELY, S. MÁNYAI und F. B. STRAUB

MEDIZINISCH-CHEMISCHES INSTITUT DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT, BUDAPEST

(Eingegangen: am 19. April 1952)

TOMUS IV. FASCICULI 3—4.

ÜBER DIE AKKUMULATION DER KALIUMIONEN
DURCH MENSCHLICHE BLUTKÖRPERCHEN

Von

F. B. STRAUB

MEDIZINISCH-CHEMISCHES INSTITUT DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT, BUDAPEST

(Eingegangen: am 9. Februar 1953)

Biochemia

TOMUS XII FASCICULI 1—3

ÜBER DIE ROLLE DER ADENOSINTRIPHOSPHOR-
SÄURE (ATP) IN DER K-PERMEABILITÄT
DER MENSCHLICHEN ROTEN BLUTKÖRPERCHEN

Von

G. GÁRDOS und F. B. STRAUB

CHEMISCHES INSTITUT DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT, BUDAPEST

(Eingegangen am 16. Juli 1956)

STRAUB F. BRUNÓ ÉS A MEMBRÁNKUTATÁS

A membránbiokémia, mint új tudományág az 1950-es években alakult ki, ekkor érték meg a módszertani feltételei a membránok komplex biokémiai tanulmányozásának. A magyar biokémikusok már a kezdet kezdetén igen eredményesen bekapcsolódtak a membránkutatásokba és Magyarországnak ezt az uttörő szerepét nemzetközileg is elismerik. Mindez Straub F. Brunó professzor érdeme.

A budapesti Orvostudományi Egyetem Orvosi Vegytani Intézetében, - a mai I. sz. Kémiai Biokémiai Intézet jogelődjében -, Straub Brunó irányításával 1950-ben indultak meg az első membránbiokémiai kutatások. E kutatások vörösvérsejtek vizsgálatával kezdődtek, mivel ezek a sejtek a kutató számára könnyen hozzáférhetőek, egyéb sejtjes elemektől könnyűszerrel elkülöníthetőek, ugyanakkor viszonylag egyszerű struktúrával és anyagcserével rendelkeznek. E munkákban az 1950-es években Cseh György, Garzó Tamás, Gárdos György, Kramer Miklós, Mányai Sándor, Prágai Dezső, Szabó Mária, Székely Mária, Szőnyi Zsuzsa és Ullmann Ágnes vettek részt. E munkák egyenes folytatását képezik azok a membránbiokémiai kutatások, melyek a közelmúltig folytak az SZBK Enzimológiai Intézetében Szabolcsi Gertrud, Friedrich Péter, Cseke Emilia és Solti Magda közreműködésével, másrészt ma is folynak az Országos Haematológiai és Vértranszfúziós Intézetben Gárdos György, Szász Ilma, Egyed András, Sarkadi Balázs és Enyedi Ágnes részvételével. Straub Brunó 33 éve megindított kutatási irányzata tehát ma is él és ma is megbecsült ága a magyar biokémiai kutatásoknak.

Miben nyilvánult meg Straub Brunó zsenialitása e munkák megindításánál? Elsősorban abban, hogy azt a sejtmodellt használta fel kísérleteiben, melyen a membránbiokémiai kísérletek legegyszerűbben kivitelezhetőek. E kezdeményezés nyomán a későbbi évtizedekben az egész világon a vörösvérsejt membránt használták modellként a membránbiokémiai és általában a membranológiai kísérletekben. Ezen kívül a reverzibilis hemolízis módszerének a membránkutatásokba, a biológiai transzport-folyamatok mechanizmus vizsgálatába való bevezetésével, új, addig módszertanilag megközelíthetetlen eredmények elérését segítette elő. Ennek a módszernek a felhasználásával Straub Brunó állapította meg elsőként a világon, hogy az aktiv iontranszport folyamatok energiaforrása az ATP, valamint azt, hogy a transzport közvetlen összefüggést

mutat a membrán ATPáz aktivitásával. E korszakalkotó kísérleti eredmény vezetett azután az ötvenes évek második felében a transzport-ATPáz enzimrendszerek felfedezéséhez.

E kiemelkedő eredmények mellett azonban nem feledkezhetünk meg arról a sok-sok biokémiai problémáról, melyek a vörösvérsejtekkel kapcsolatban Straub Brunót foglalkoztatták. E kérdések a hemolizis mechanizmusától, a vörösvérsejt enzimek topográfiáján keresztül a vérkonzerválás gyakorlati problémáig terjedtek, jelezve azt a sokoldalúságot, ahogy Straub Brunó minden tudományos kérdést megközelít.

GÁRDOS GYÖRGY

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
ORVOSI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK

KÖZLEMÉNYEI

III. KÖTET 1—2. SZÁMÁBÓL

A VÖRÖSVÉRTESTEK ANYAGCSERÉJE ÉS K-ION PERMEABILITÁSA

STRAUB F. BRUNÓ r. tag

Előadta az 1951. évi december hó 12-én tartott osztályülésen

I. Bevezetés

Az anyagcsere folyamatainak tanulmányozása a biokémia elmúlt két-három évtizedes kutatásaiban igen nagy eredményeket hozott. Egyrészt az anyagcserefolyamatok sokaságát sikerült részleteiben megismerni, másrészt ezzel kapcsolatosan felderítette a biokémia az anyagcserefolyamatokat katalizáló fermentek mibenlétét és hatásuk módját, végül pedig egyéb módszerek mellett az izotópok alkalmazásával mennyiségi bizonyítékokat nyertünk arra, hogy az anyagcserefolyamatok révén az egész szervezet a dinamikus egyensúly és állandó változás állapotában van.

Azok az analitikus biokémiai kísérletek, amelyek a biokémia majdnem kizárólagos tárgyát képezték az elmúlt időkben, jóformán csak a lebontó, energiatermelő folyamatok tanulmányozását tették lehetővé. Ebben az időszakban a biokémikus fő célja az volt, hogy a kísérleti feltételek leegyszerűsítésével olyan körülményeket teremtsen, ahol kémiai módszereit alkalmazhatja. Ezek a feltételek lényegében annyit jelentenek, hogy a sejt, vagy az élő szervezet egészét, szerkezetét megszüntelve, erősen sematizált körülmények között annak egy részletfolyamatát tanulmányozzuk és a többi folyamatot, mint zavaró momentumot, lehetőleg kiküszöböljük. Ennek a módszernek hatalmas sikerei voltak azáltal, hogy betekintést engedett egyes folyamatok anyagi alapjainak megismerésére. Végeredményben ilyen módon ismertük meg az élelfolyamatokat, az anyagcserefolyamatok anyagi alapjait, a fehérjék funkcióját. Ezeknek a kísérleteknek nagy gyakorlati eredménye a vitaminok megismerése és szerepük tisztázása.

AZ ELSŐ 70 ÉV MÁSODIK 35 ÉVE

Kevés embernek adatik meg, hogy szakmai képzését világhírűvé váló iskolában nyerje. Még kevesebb kutatónak jut osztályrészül az a szerencse, hogy nemzetközi híré iskola kialakítója lehessen. Az pedig végleg a legnagyobb ritkaságok közé tartozik, hogy valaki azzal dicsekedhessen, hogy egy ország adott tudományterületén nemcsak egyetlen irányzat kialakítójaként ismerjék.

STRAUB F. BRUNÓ a világhírű SZENT-GYÖRGYI iskolából indult. Tanítványai között tucatszám találunk akadémikusokat, professzorokat, tudományok doktorait, vezető kutatókat. De ami egy kutató számára a legfontosabb, nevéhez fűződik Magyarországon az izomkutatáson belül az aktin felfedezése és szerepének tisztázása, a kristályos enzimek vizsgálatának elindítása a tejsav dehidrogenázzal végzett munkája alapján, a vörösvértest anyagcsere és a permeabilitás összefüggésének vizsgálata, a fehérjeszerkezet motilitásának felismerése, az SH-SS kicserélődés mechanizmusának felderítése, az amiláz szerkezete és működése közötti kapcsolat, valamint a fehérje öregedésének vizsgálata. A lista biztosan nem teljes. Az általa vezetett intézetekből indult el a modern enzimológia, az enzimkinetika, a génmanipuláció kutatási iránya, hogy csak néhány legfontosabbat említsek.

Személyes kapcsolatunk úgy indult, hogy még Debrecenből beküldtem egy cikket az Acta Physiol.-ba, amelyet ő visszautasított. Én természetesen megsértődtem. Pedig milyen igazam volt. Mikor Budapestre kerültem ő nagyon ellenezte azt a kutatási irányt amelybe néhányan belekezdünk. Persze én megsértődtem. Pedig milyen igazam volt. Az ötvenes évek MÉT-jein én mindig nagyon élesen támadtam előadásait a fehérjeszintézisről. Természetesen ő nem sértődött meg soha. Pedig milyen igazam volt.

Körülbelül abban az időben kezdtem kinetikával foglalkozni, amikor ő az intézet vezetője lett. Egy új irányzat kifejlődését kétféle módon lehet elősegíteni. Úgy, hogy minden segítséget megadunk számára és támogatjuk, vagy úgy, hogy minden segítséget megadunk számára és ellenezzük. Szerencsére STRAUB a második módszert alkalmazta és ez sokkal alaposabb munkára, sokkal mélyebb önkritikára

és sokkal szélesebb áttekintésre készítetett mindnyájunkat.

Egy enzimkinetikus reggel, éhgyomorra, minden erőfeszítés nélkül kitalálhat lehetetlen dolgot (v.ö./1/). STRAUB-nak köszönhetjük, hogy ki akarjuk találni a hetediket is, melynek fiziológiai körülmények között lehet valószínűsége. És nem tesszük bele a jeget, ha ki akarjuk önteni (v.ö./2/).

Nehéz elképzelni, hogy már 70 éves. Koráról csak a tudása, tapasztalata és bölcsessége tanuskodik. Dinamikussága, mindig újat akarása, megújulási képessége, legendásan sziporkázó vitakészsége, az elveihez való megalkuvás nélküli ragaszkodása pontosan olyan, mint eddigi életútjának felén volt - amióta személyesen ismerjük egymást.

Remélem, hogy miután STRAUB - mint hálás tanítvány - nyilatkozott a jó egészségnek örvendő SZENT-GYÖRGYI ILO. születésnapján, még leszek olyan állapotban, hogy felkészöntsem őt a 90. születésnapja alkalmából kiadandó ünnepi "BIOKÉMIA" számban.

KELETI TAMÁS

I r o d a l o m :

- 1./L.Carroll: Alice Csodaországban.
- 2./P.Howard: Vesztegzár a Grand Hotelben.

PRELIMINARY NOTES

189

PN 61010

The mechanism of action of the ribonuclease-reactivating enzyme

*Institute of Medical Chemistry,
Medical University,
Budapest (Hungary)*

P. VENETIANER
F. B. STRAUB

Received April 6th, 1964

Biochim. Biophys. Acta, 89 (1964) 189-190

The enzymic reactivation of reduced ribonuclease

PN 10021

*Institute of Medical Chemistry,
Medical University,
Budapest (Hungary)*

P. VENETIANER
F. B. STRAUB

Biochim. Biophys. Acta, 67 (1963) 166-168

Fehérje-szerkezet, fehérje-funkció

A hatvanas években a biológiai kutatások társadalmi presztizse Magyarországon is érezhetően megnőtt, ennek hatása abban is kifejezésre jutott, hogy döntés született a Szegedi Biológiai Központ létrehozataláról. A fokozott erkölcsi és anyagi támogatás nem maradt eredmény nélkül, ebben a viszonylag rövid időszakban a magyar biokémiai kutatás nagyrészt behozta lemaradását. A hazai kutatások felzárkóztatásában jelentős szerep jutott a Straub professzor által vezetett Orvosvegytani Intézetnek és Enzimológiai Intézetnek. Ebben az időben, 1967-ben végeztem az ELTE biológia-kémia-genetika szakán és, mint az SZBK leendő munkatársa, kutatómunkámat az Orvosvegytani Intézetben kezdhettem el. A Straub professzor személyisége által meghatározott demokratikus, teljesítménycentrikus munkahelyi légkör biztosította számunkra, hogy a kutatási munkát izgalmas, jutalmát önmagában hordó, szellemi foglalkozásként foghassuk fel. Jó közérzetünkhöz az is hozzájárult, hogy nyilvánvaló volt a kutatások társadalmi hasznossága. Nem kellett nap mint nap bizonygatni az alapkutatás fontosságát, hiszen magától értetődő volt, hogy alapkutatással foglalkozó kutatási bázis nélkül színvonalas alkalmazott kutatás és fejlesztési tevékenység sem lehetséges. Természetesnek tűnt, hogy az alkalmazott kutatás és alapkutatás szembeállítása hamis, szembeállítani csak a jó és rossz kutatást szabad. A kutatás nemzetközi színvonalra emelése érdekében Straub professzor szorgalmazta, hogy a tudományos közlemények lehetőleg rangos nemzetközi folyóiratokban kerüljenek közlésre. A nemzetközi színvonal gyorsabb elérését szolgálta az is, hogy Straub professzor támogatta azt, hogy fiatal kutatók 1-2 éves tanulmányutat tegyenek egy-egy élvonalbeli külföldi laboratóriumban.

Straub professzor tanácsára én a fehérjekémiai kutatások egyik vezető laboratóriumában tettem tanulmányutat. Kétéves munkámat 1972-ben kezdtem meg a University of California, Los Angeles, Department of Biological Chemistry-n. Az itt működő, Emil L. Smith professzor által vezetett csoport határozta meg

elsőként egy hiszton, a hiszton IV, teljes aminosav sorrendjét, s én is a hisztonok szerkezetvizsgálatát célzó kutatásba kapcsolódtam be^{1,2}. Megállapítottuk, hogy a borsóból izolált hiszton III szekvenciája mindössze három aminosavban tér el a borju timuszból izolált hiszton III szekvenciájától, így a hiszton IV mellett a hiszton III a legkonzervatívabb ismert fehérje. Az arginin-gazdag hiszton III és hiszton IV aminosav sorrendjének állandósága azt bizonyította, hogy a kromatin szerkezetének és funkciójának szabályozásában játszott szerepük gyakorlatilag nem változott az eukarióta evolúció során. A hisztonok kémiai szerkezetének meghatározása így vezetett annak felismeréséhez, hogy a növények és állatok kromatinjának szerkezete azonos elvek alapján épül fel és szinte törvényszerűen vezetett a nukleoszómák felfedezéséhez. Számomra a hiszton III-on végzett munka annak példájául szolgál, hogy szerencsés esetben a fehérjeszerkezet vizsgálat nem csak az ismert szekvenciák számát szaporítja, de közvetlenül segíthet a fehérje funkciójának megértésében is és fontos evolúciós kérdéseket válaszolhat meg. Munkám során módszert fejlesztettem ki az arginin oldalláncok specifikus és reverzibilis kémiai módosítására, amely amellet, hogy alkalmazható szekvencia-analitikai stratégiák részeként, felhasználható annak vizsgálatára, hogy az arginin oldalláncok milyen szerepet játszanak a különböző fehérjék funkciójában³⁻⁵. Tanulmányutam befejezése után Straub professzor úr lehetővé tette számomra, hogy az SZBK Enzimológiai Intézetében folytathassam ilyen irányú fehérjekémiai kutatásaimat. Vizsgálatainkban elsősorban fehérjék arginin oldalláncainak a fehérje-ligand kölcsönhatásokban játszott szerepét tanulmányoztuk⁶⁻¹³. A különböző fehérjéken végzett kísérletekből kitűnt, hogy negatív töltésű ligandok kötésében általában arginin oldalláncok játszanak szerepet.

A fehérje-szerkezet, fehérje-funkció összefüggéseit, a fehérje-ligand kölcsönhatások szerkezeti alapjait 1979 óta elsősorban a fibrinolitikus rendszer elemein vizsgáljuk¹¹⁻¹⁷. Az objektum kiválasztásában az a, Straub professzor által szorgalmazott, törekvés jutott szerephez, hogy az alap kutatás olyan kérdésekre keressen választ, melyek kapcsolódhatnak gyakorlati

kérdések megoldásához. A fibrinolitikus rendszer alapkutatás szintjén történő vizsgálata számos olyan eredményt hozott az utóbbi időben, melyek közérthetővé tették e kutatás fontosságát. Az a tény, hogy plazminogén aktivátorok felhasználásával gyógyítható több, a halálokok ranglistáján előkelő helyet elfoglaló betegség, azt igéri, hogy ez a kutatás igen hamar hoz lényeges gyakorlati eredményeket is. A benne rejlő lehetőségeket talán misem illusztrálja jobban, mint az, hogy a biotechnológia egyik legdinamikusabban fejlődő ága éppen a plazminogén aktivátorok géntechnológiai úton történő előállítás¹⁸.

A fehérjekémiai kutatások területén Straub professzor úr indított el azáltal, hogy tanácsára és támogatásával ennek a területnek a műveléséhez szükséges ismereteket és gyakorlatot az egyik legkiválóbb külföldi fehérjekémiai laboratóriumban sajátíthattam el. Fehérjekémiai kutatásaim folytatását itthon is lehetővé tette, munkámat mindig figyelemmel kísérte, észrevételeivel segítette, így nagyrészt neki köszönhetem mindazt az örömet amit ez a munka számomra nyújt.

PATTHY László

- 1 Patthy, L., Smith, E.L. and Johnson, J. (1973) J. Biol. Chem. 248 6834
- 2 Patthy, L. and Smith, E.L. (1975) J. Biol. Chem. 250 1919
- 3 Patthy, L. and Smith, E.L. (1975) J. Biol. Chem. 250 557
- 4 Patthy, L. and Smith, E.L. (1975) J. Biol. Chem. 250 565
- 5 Patthy, L. (1976) in: Protein structure and evolution (eds. Fox, J.L., Deyl, Z. and Blazej, A.) M. Dekker, New York and Basel, pp. 91
6. Patthy, L. (1978) Eur. J. Biochem. 88 191
- 7 Patthy, L. and Vas, M. (1978) Nature, 276 94
- 8 Machovich, R., Staub, M. and Patthy, L. (1978) Eur. J. Biochem. 83 473
- 9 Patthy, L., Váradi, A., Thész, J. and Kovács, K. (1979) Eur. J. Biochem. 99 309
- 10 Patthy, L. and Thész, J. (1980) Eur. Biochem. 105 387
- 11 Váli, Zs. and Patthy, L. (1980) Biochem. Biophys. Res. Commun. 96 1804
- 12 Váli, Zs. and Patthy, L. (1982) J. Biol. Chem. 257 2104
- 13 Trexler, M., Váli, Zs. and Patthy, L. (1982) J. Biol. Chem. 257 7401
- 14 Váradi, A. and Patthy, L. (1981) Biochem. Biophys. Res. Commun. 103 97
- 15 Váradi, A. and Patthy, L. (1983) Biochemistry, 22 2440
- 16 Trexler, M. and Patthy, L. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 80 2457

- 17 Trexler, M., Bányai, L., Patthy, L., Pluck, N.D. and Williams, R.J.P. (1983)
FEBS Letters, 154 311
- 18 Beardsley, T. (1983) Nature, 305 175

А К А Д Е М И Я Н А У К С С С Р

ИНСТИТУТ РАДИАЦИОННОЙ И
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ

МОЛЕКУЛЯРНАЯ

БИОЛОГИЯ

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

*К 70-летию со дня рождения академика
В. А. ЭНГЕЛЬГАРДА*

(Отдельный оттиск)

О ДИНАМИЧЕСКИХ АСПЕКТАХ СТРУКТУРЫ ФЕРМЕНТОВ

Ф. Б. Штрауб и Г. Сабольчи

*Институт биохимии Венгерской Академии наук, Будапешт,
Венгерская Народная Республика*

REMARKS ON THE DYNAMIC ASPECT
OF ENZYME STRUCTURE

F. B. Straub and G. Szabolcsi

*Institute of Biochemistry, Hungarian Academy of Sciences,
Budapest, Hungary*

The concept of fluctuation and motility of protein molecules, advanced by Linderstrøm-Lang and Schellman, is applied to recent results of enzyme chemistry. The conformation of the enzyme in solution is regarded to be the statistical average of a number of different conformations, the protein structure oscillating between these conformational states. Among these are included such different conformations which correspond to the structure present in the enzyme-substrate complex, or to the structure present in the enzyme-product complex or to the structure modified by the presence of an allosteric effector. Motility is regarded as a prerequisite of enzyme action.

It is suggested that enzymes having more active sites are more labile than those having a single site only. Due to the motility of parts of the enzyme, side chain interactions may modify the statistical distribution of permissible structures. It is therefore possible that some structures are more stable in the cellular environment than in the isolated enzyme.

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

МОСКВА 1964

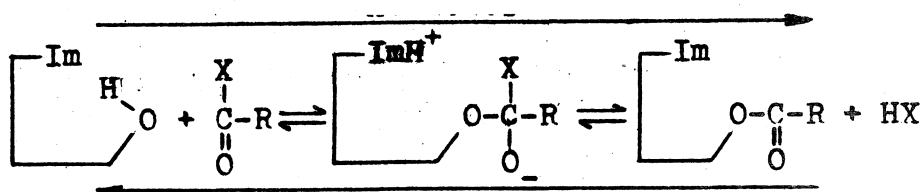
A PEPTIDKÖTÉS HASITÁSA : VÁLTOZATOK EGY TÍPUSA

SZERIN- ÉS CISZTEIN PROTEÁZOK

Az a szerencse jutott osztályrészemül, hogy már egyetemi hallgató koromban a STRAUB professzor által vezetett intézetben dolgozhattam. Itt ismertem meg azt a józan tudományos szellemet, amit mindig igyekezett és ma is igyekszik megvalósítani. A munkabeszámolók, cikkviták során sokat tanultunk Tőle. Tőle hallottam azt a nagyon is megfontolandó véleményt, hogy csak az nem tudja világosan kifejezni magát, aki maga sincsen tisztában gondolataival. Rövid lényegre törő megjegyzései mindig találóak voltak. A munkát mindig többre becsülte az ünnepélyes szavaknál. Ezért most a jubileum alkalmából szavak helyett az alábbi munkákkal és a benne felvetődő gondolatokkal szeretném köszönteni - abban a reményben, hogy még sokat tanulhatunk Tőle.

A proteázok az életfolyamatok rendkívül széles skáláján játszanak döntő szerepet azért, hogy bizonyos kulcsvegyületeket - peptideket, fehérjéket - aktiválnak, előhivnak, vagy éppen elbontanak. Ahhoz, hogy a proteázoknak ezt a szabályozó hatását befolyásolhassuk, például megfelelő gyógyszerek tervezése révén, működésüket jól kell ismernünk. A hatásmechanizmus főbb vonásait legkorábban a szerin-proteázok esetében derítették fel, s ma már a csoport több tagjának a térszerkezetét is ismerjük. A vizsgálatok oroszánrészt a kimotripsinnel végezték /cf. 1/.

Acilezés



Dezacilezés

Szerinproteázok hatásmechanizmusa

X az acilezésben OR', ill. NHR', a dezacilezésben OH csoportot jelent.

A mechanizmus lényegét szemléltető ábra szerint a szubsztrátum karbonil szénatomját a szerin hidroxilcsoportja mint nukleofil ágens támadja és a reakciót egy szomszédos hisztidin imidazol oldallánca, mint általános bázis-katalizátor segíti. Az így képződött tetraéderes intermediérből a távozó csoport kilépését általános sav-katalizátorként az előző lépésben keletkezett imidazolium-ion segíti. Ez a folyamat egy intermediér acil-enzimhez vezet, ami ugyanolyan mechanizmussal bomlik el, mint amilyennel keletkezett, tehát általános bázis és sav-katalizissal. A deacilezésnél a nukleofil ágens egy vízmolekula hidroxil-csoportja. Ugyanezt a mechanizmust tételezték fel cisztein-proteázoknál is, ahol a hidroxil-csoport szerepét egy SH-csoport tölti ki. Ezzel szemben az alábbi vizsgálataink, amelyekre itt - részletes ismertetés helyett - inkább csak hivatkozunk, néhány fontos különbségre hívja fel a figyelmet.

Nukleofil támadás az acilezési lépésben. Az ábrán látható, hogy a szerin-proteázoknál a hidroxil-csoport támadását általános bázis-katalízis segíti. Papainnal, a cisztein-proteázok legismertebb képviselőjével végzett vizsgálatainkban kimutattuk, hogy itt az analóg lépésnél nincsen bázis-katalízis /2/. Az SH-csoportok alkilezésének pH-függése egyértelműen mutatta, hogy az alacsonyabb pH-tartományban, ahol az enzim-aktív, a reakciót valamilyen szomszédos csoport, legvalószínűbben a hisztidin imidazol-csoportja segíti. Ez a segítség azonban nem lehetett bázis-katalízis. Ugyanis a bázis-katalizált folyamatok nehézvizben 2-4-szer lassabban játszódnak le, mint közönséges vízben. Így találták ezt a szerin-proteázoknál is /1/. A papainnál azonban nem találtunk ilyen hatást sem az alkilezési, sem az acilezési reakcióban /2, 3/. Feltételeztük, hogy a papain -SH és imidazol csoportja között ion-pár képződés van és ez a merkaptid-imidazolium ion-pár tölti be a nukleofil ágens szerepét. Ebben az esetben nyilvánvalóan nem lehet bázis-katalízis, mert a proton már eleve az imidazol csoporton van. Ezt bizonyítandó spektrofotometriás eljárást dolgoztunk ki, amellyel az -SH csoport disszociált voltát, merkaptid-ion jellegét fehérjékben ki lehet mutatni /4/. Ezzel a módszerrel igazoltuk a merkaptid-ion jelenlétét nemcsak papainnal /5/, hanem más -SH enzimeknél is, így a D-gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáznál és a tiolszubtilizinél is. Ez utóbbi enzim nem fordul elő a természetben. Egy bak-

teriális szerin-proteázból, a szubtilizinből állítottuk elő kémiai módosítással úgy, hogy az enzim reaktív hidroxil-csoportját -SH csoportra cseréltük ki. Ily módon a szerinproteázból cisztein-enzimet készítettünk /6/. A tiolszubtilizin esetében az ion-pár létezését egy másik oldalról is megvizsgáltuk. Mágneses rezonancia mérésekkel kimutattuk, hogy az aktív centrum imidazol-csoportja protonált állapotban van /7/. Így tehát a nukleofil ágens ion-pár jellege /disszociált -SH és protonált imidazol/ két oldalról is bizonyítást nyert.

A tiolszubtilizinre vonatkozó további vizsgálatok az aktív centrum természetére vonatkozólag is fontos információkat szolgáltatottak. Megmutatták, hogy az enzim aktív centruma rendkívül érzékeny lehet még az olyan finom torzulásokra is, mint amilyen az oxigénatommal 0.4 \AA -mel nagyobb sugarú kénatom okoz. Ez abban nyilvánult meg, hogy a tiolszubtilizin a peptidszubsztrátumokat nem volt képes hidrolizálni, csupán részleges aktivitást mutatott: aktív észtereknek, mint amilyenek a nitrofenilészterek, a hidrolízisét katalizálta, s a katalízis mechanizmusa valóban megegyezett a papain hatásmechanizmusával. Ez az eredmény bizonyos fokú meglepetést keltett, mivel sokan feltételezték, hogy a kis szerkezeti változásokat a flexibilis enzim könnyen kompenzálhatja. /Megjegyezzük, hogy a kén nagyobb nukleofilitása miatt a természetes enzimaktivitás megszűnése kémiai alapon egyáltalán nem várható. Az aktivitás elvesztésének első sorban geometriai okai lehetnek.

Oxianion kötőhely. A röntgendiffrakciós vizsgálatok, amelyekkel a kristályos fehérjék térszerkezetét elég jó felbontásban meg lehetett határozni mind a különféle szerinproteázoknál /8/, mind a papainnál /9/, arra engedtek következtetni, hogy a katalízis során keletkező tetraédes intermediért, illetve az ahhoz hasonló átmeneti állapotot, az enzim hidrogénhidakkal stabilizálja. A hidrogénhidak a tetraédes intermediér, illetve a reakció átmeneti állapotának negatív töltésű oxigénatomja és az enzim bizonyos /első sorban peptid/ -NH-csoportjai között jönnek létre. Ez a kölcsönhatás csökkenti az átmeneti formák energiatartalmát s így jelentősen meggyorsítja a katalízist. Éppen a fent vázolt, tiolszubtilizinnel kapott eredményeink alapján gondoltunk arra, hogy ha a negatív oxigén atomnak valóban fontos szerepe van a katalízisben, akkor a szub-

sztrátum karbonil oxigénjének kénnel való helyettesítése a katalizist jelentősen kell, hogy befolyásolja. Ezért tionoszubsztrátumokat szintetizáltunk s megvizsgáltuk viselkedésüket egyszerű kémiai és enzimés hidrolízis során /10/. Alkalikus hidrolízisnél a tionoészterek gyakorlatilag ugyanolyan sebességgel hidrolizáltak, mint a megfelelő oxoészterek, vagyis kémiai reaktivitásukat az oxigén-kén csere nem befolyásolta számottevően.

Az enzimekkel történő hidrolízisnél kapott legfontosabb eredményeket /10, 11/ táblázatban foglaltuk össze. Ebben az acilezési reakciók sebességi állandóinak hányadosait tüntetjük fel. Kijönik, hogy a tionoészter a szerinproteázok esetében több, mint négy nagyságrenddel rosszabb szubsztrát. Hidrolízisének sebessége nem is mérhető, a valódi szubsztrátumok hidrolízisét pedig olyanryira gátolja, hogy vizsgálatuk révén a proteázgátlóknak egy új családjához jutottunk. A szerin-proteázokkal

Proteázoknak acilezése: oxo- és a megfelelő tiono-
észterek sebességi állandóinak hányadosai

Specifikus szubsztrát	Szerin-proteázok		Cisztein-proteázok			Ficin
	Kimo- tripszin	Szubti- lizin	Papain	Kimo- papain	Papaya peptidáz	
Ac-Phe-OEt	10 000	10 000				
Z-Phe-Gly-OEt			26	8.0	3.9	5.3

szemben a cisztein-proteázok viszonylag jól hidrolizálják a tionoészter szubsztrátumot. Mivel itt jól mérhető hidrolízist találtunk, a dezacilezési reakciókat is meg tudtuk mérni és azt kaptuk, hogy a csökkenés /oxo/tiono/ mértéke az acilezési és a dezacilezési reakciókban hasonló. Ez összhangban van a tetraéderes intermediérnek mindkét katalitikus lépésben való jelenlétével. E kísérletekből nyilvánvaló, hogy az oxianion kötőhely fontos szerepet játszik a szerinproteázok működésében, nem jelentős viszont a cisztein-proteázoknál. Valószínű, hogy itt a negatív oxigénatom a közeg felé és nem az enzim felületére mutat.

A katalizis problémájának kétféle megközelítése

Lehet, hogy a szerin- és cisztein-proteázok hasonló koreográfia szerint történő működésében a fenti különbségek nem tűnnek lényegesnek, mégis a katalizis egyik fontos vonását érintik. A szerin-proteázoknál mind a bázis-katalizis, mind az oxianion stabilizálása nagyon pontos geometriát, szerkezeti megszorításokat igényel. Így entrópia veszteség árán entalpia nyereséghez jutunk. A cisztein-proteázoknál fordított a helyzet. Itt jóval kisebbek a szerkezeti kötöttségek, egyszerűbb a mechanizmus. A peptidkötés hasítását a kétféle enzim tehát hasonló úton de más "konceptió" alapján valósítja meg. Mindkét "konceptió" hatékony. Ma, amikor már több laboratóriumban komolyan foglalkoznak a fehérjéknél egyszerűbb szerves katalizátorok szintézisével, az enzimek "konceptióit" a vegyészeknek is célszerű figyelembe venniük, hiszen a kevésbé pontos geometriát igénylő mechanizmus megvalósítása több reménnyel kecsegtet. Egy további, az evolúcióval kapcsolatos következtetést is érdemes levonni a fenti eredményekből. Az a tény, hogy a cisztein-proteázok egyszerűbb eszközökkel dolgoznak, felveti annak lehetőségét, hogy az evolúció során korábban alakultak ki, mint a szerin-proteázok, s így egy ősbibb enzimcsaládot képviselnek.

POLGÁR LÁSZLÓ

I R O D A L O M :

1. Bender M.L. és Kézdy F.J. /1965/ Ann.Rev.Biochem. 39, 49.
2. Polgár L. /1973/ Eur.J. Biochem. 33, 104.
3. Polgár L. /1979/ Eur.J. Biochem. 93, 369.
4. Polgár L. /1973/ FEBS Lett. 38, 187.
5. Polgár L. /1975/ FEBS Lett. 47, 15.
6. Polgár L. és Bender M.L. /1966/ J.Am.Chem.Soc. 88, 3153.
7. Jordan F. és Polgár L. /1981/ Biochemistry 20, 6366.
8. Kraut J. /1977/ Ann.Rev.Biochem. 16, 331.
9. Drenth J., Kalk, H. és Sewen, H.M. /1976/ Biochemistry 15 3731.
10. Asbóth B. és Polgár L. /1983/ Biochemistry 22, 117.
11. Asbóth B., Stokum É., Khan, I.U. és Polgár L. /1983/ Közlés alatt.

AMIT NEM LEHET MEGTANULNI

1960-ban, rövid és addig sem túl sikeres kutatói pályám során először /de nem utoljára/ következett be az az állapot, amit DÉVÉNYI TIBOR klasszikus könyvében "Generálkrach"-nak nevez. Világossá vált, hogy a téma, amin dolgoztam, tökéletesen kifulladt, minden további kinlódás értelmetlen, nincs más választás, mint abbahagyni és valami egészen újat kezdeni. Minthogy közvetlen főnököm külföldre távozott, senki nem mondta meg, hogy mihez fogjak. A nagyfőnök, STRAUB F. BRUNÓ nyilván kíváncsi volt rá, hogy mi telik tőlem; szintén rám bízta a választást. Ebben a - egyesek által talán irigyelt - helyzetben eléggé tanácstalan voltam. Lázasan olvastam, minden héten új kísérleti rendszer beállítását határoztam el, némelyiket ki is próbáltam, sok negatív tapasztalatot gyűjtöttem, de ezt a kapkodást nem lehetett igazi kutatómunkának nevezni. Végül, néhány hónap elteltével a PROF megelégte a dolgot és valami ilyesmit mondott: "Magának az a baja, hogy mindig az irodalomból próbál ötleteket meríteni! Miért nem gondolkodik a saját fejével? Gondolt már például arra, hogy hogyan alakulhatnak ki a fehérjemolekulákban a nem-peptid természetű kovalens kötések? Ugy tudom, hogy soha senki nem foglalkozott még azzal, hogyan képződnek a diszulfidhidak. Hátha ehhez is kell valamilyen enzim?" Gyorsan utánanéztam a dolognak, kiderült, hogy valóban szinte szűz terület és nagyon egyszerűnek ígérkezik a vizsgálatára alkalmas kísérleti rendszer beállítása. Néhány nap múlva már lelkesen mutathattam meg az első biztató eredményeket, amelyek igazolni látszottak a diszulfidképzést katalizáló enzim

létét. Azóta is szívesen emlékszem vissza arra az időszakra, ami ezután következett - szinte minden sikerült. Megismertem a kutatói pálya sikereinek mindkét fajtáját. Azt a fontosabbik belsőt, amelyik az eredményes munkából táplálkozó szellemi izgalomból ered és azt a szintén jóleső külsőt is, amely közleményekben, kandidátusi disszertációban, amerikai meghívásban öltött testet. Mindezt STRAUB F. BRUNÓnak köszönhettem, de természetesen nem csak ezt. Itthon és külföldön mindig magától értetődő természetességgel vallottam, hogy mesterem ezen a pályán STRAUB volt. Azon azonban csak mostanában gondolkodtam el, hogy mit is jelent ez tulajdonképpen; hogyan válaszolnék arra a kérdésre, hogy mit tanultam tőle?

A kísérleti biokémia manuális szakma, számos fogását csak a gyakorlatban lehet elsajátítani. Amikor azonban én az Orvosi Vegytani Intézetbe kerültem, a PROF már csak ritkán végzett sajátkezűleg kísérletet, experimentális technikákat tehát nem tanulhattam tőle. Természetesen szóban is lehet tanácsokat adni a gyakorlati munkához, ilyen tanácsokat gyakran kaptam is, de ebben is többet köszönhettem az intézet szenior kutatóinak, akik mellett dolgoztam hosszabb-rövidebb ideig. Mi volt hát mégis az, amit tőle kaptam? A szakma tisztelete és szeretete? A kritikai érzék? A reális kérdések feltevése? A megfelelő kontrollok megbecsülése? Igen, igen mindezt és sok mást megtanultam /remélem/ inaséveimben, de ezek tulajdonképpen alapvető követelményei mesterségünknek, amelyeket mindenkinek meg kellene tanulnia és igen sokan meg is tanulnak. Nem ez a titok nyitja. Voltaképpen rosszul tettem fel a kérdést. Azt nem tudom megmondani, hogy mit tanultam STRAUBtól, azt azonban igen, hogy mi az, amit mindannyian csak szerettünk

volna ellesni tőle - sikertelenül - mert ezeket a dolgokat nem lehet megtanulni.

Nem megtanulható az az ijesztő képessége, hogy egy huszoldalas kéziratba unottan belelapoz és azonnal észreveszi a benne előforduló két hibát. Nem megtanulható az az ökonómia és szellemi fölény, amellyel egy bizottsági ülést, vagy intézeti értekezletet levezet. Nem lehet tanítani a lényeglátást, az intuiciót, a humorérzékét. Noha abszolút tekintélye volt mindig munkatársai között, nemcsak elnézte, hanem nagyra is értékelte a szellemes szemtelenséget. Hadd idézzem fel, hogy egy időben az intézetben járványszerű divat volt a sakkozás /sok más játékláz után/. A PROF is gyakran leült napközben egy-egy partira, de mivel rendszerint sietett, csak ugynevezett "schnellezésre" volt hajlandó, limitált gondolkodási idővel. Egyszer felidegesítette egy kollégánk hosszabb habozása és rászólt: "Ha maga minden lépés előtt ennyit gondolkozik, nem fogok többé magával játszani!". Erre barátunk sértetten felsattant: "Hogy mondhat ilyet Professzor Ur? Mindenki tudja, hogy ebben az intézetben Ön után mindjárt én gondolkodom a legkevesebbet!" Ezt az anekdotát nagy lelkesedéssel mesélte azután mindenkinek - természetesen nem a fiatal kolléga, hanem a PROF.

Nagy kár, hogy már régen nem oktat. A hallgatók rajongtak előadásaiért, de ezt sem lehetett eltanulni tőle, hiszen nem előadói trükkökkel, viccmeséléssel kötötte le őket, egyszerűen a lényével. És természetesen, ez a lényeg. Mindenkinek éreznie kellett a jelentékeny személyiség varázsát, aki valaha együtt dolgozott vele.

AZ ELTÜNT IDŐ NYOMÁBAN

1941. őszén, első éves medikaként ismertem meg STRAUB F. BRUNÓ-t, mint a SZENT-GYÖRGYI által vezetett Szegedi Orvosvegytani Intézet fiatal adjunktusát, aki SZENT-GYÖRGYI helyett előadóként elég gyakran az általános kémia rejtelseibe vezetett be bennünket. Nagyon kedveltük világos, érdekes előadásait és mikor második évben a növényi hormonokról speciál kollégiumot hirdetett, nagy örömmel vettünk részt rajta. Emlékszem, hogyan veszem össze egy jó barátommal, mert nem volt hajlandó kellő áhitattal figyelni előadásain. Már hallgató koromban nagyon szerettem volna bekerülni az akkori Szent-Györgyi Intézetbe, erre azonban csak a háboru után nyílt mód, mikor a szegedi intézet vezetését STRAUB F. BRUNÓ vette át, aki nemcsak az intézet, de a Prof nevet is örökölte SZENT-GYÖRGYI-től.

A "haladó hagyományok" folytatása közül különösen a röplabda meccsre emlékszem, amikben mindnyájan nagy lelkesedéssel vettünk részt, és az ellenfelet, a gyógyszeratan, a kórtan vagy élettan csapatát gyakran megvertük. Nagyon örültem, amikor 1949-ben én is azon kiválasztottak közé kerültem, akik Budapestre mehettünk a Proffal, akit akkor neveztek ki a megüresedett Orvos-Vegyteni Intézetbe a Puskin utcában. Eleinte folytattuk a haladó hagyományokat, röplabda meccseken kívül futballmeccset is játszottunk az Élettani Intézet csapata ellen és a mérkőzést megnyerve a Prof sörivő és süteményevő versenyt rendezett a Moszkva-téri eszpresszóban. Máskor "brigádunk" /ezt ma munkacsoportnak neveznék/ megnyerte a Szent-Györgyi éléskamra kisorsolásánál a Mag néni által készített almabefőttet, lisztet és zsírt, ami után a brigád elhatározta, hogy ebből almáspite készüljön. Ezzel természetesen engem biztattak meg, mint a brigád egyetlen női tagját. Ha jól emlékszem, BALÁZS RÓBERT, FEUER GYÖRGY, KRÁMER MIKLÓS és GARZÓ TAMÁS voltak a brigádtagok. Ezután a szomszédos Élettani Intézetből KOVÁCH ARISZTID-től megérdeklődtem az almáspite receptjét, miután az ő főzőtudománya volt a legmagasabb szintű köztünk. Egyik este krumplipiráz preparálás közben nekiláttam az almáspitének.

Éjfélre el is készült a finom szagu tészta és másnap reggelire tálaltam. A brigádtagok legnagyobb bánatomra, csak egy szeletet ettek, de a Prof ötöt is megevett! Utóbb kiderült, hogy az élesztő kimaradt a receptből, ami kissé cipőtalp-szerűvé tette a tésztát, de a Prof, aki akkor az Intézetben egyedül lakott, nem volt olyan finnyás, mint a többiek.

Ekkortájt esett meg az is, hogy egy szombaton közölte ve-lünk: "Holnap új módszerrel szeretnék aktint preparálni, jöjjenek be!" Mindenki megtiszteltetésnek vette a meghívást és ebédre még meg is voltunk hiva a Rákóczi uti bisztróba /akkor még csak buffet volt/, majd folytattuk a munkát. Bizony nem volt ritkaság, hogy a Puskin utcai kerítést át kellett éjjel mászni, mert a kaput 10-kor becsukták és gyalog mentünk haza, mert a villamosok csak éjfélig jártak! Mindezt csak azért irtam le, hogy érzékeltessem, mennyire más volt akkor a munkastilus, az intézeti élet, mint manapság. Egyfelől a Prof kimagasló egyénisége vonzott mindenkit, akinek a kegyeiért versengtünk, és boldogok voltunk, ha együtt lehetünk vele akár szakmai, akár politikai, kulturális vagy egyéb dolgokról volt szó, másfelől ott volt a mi nagy lelkesedésünk, mert azt hittük, hogy a mi tudományunkkal megválthatjuk a világot! Kár, hogy ez a hitünk nem tarthatott így örökké.

A Prof nagyvonalu intézetvezetési stílusából még később is sokat tanultam: közvetlenséget az emberekkel, a fiatalokkal, pl. amikor nem magához hivatja őket, hanem ő keresi fel a laborokban a dolgozókat. Demokratikus intézetvezetése abban is megmutatkozott, hogy ellenvéleményünket kendőzetlenül, nyugodtan megmondhattuk neki, abból semmiféle hátrányunk soha nem származott, ami abban az időben ritkaság volt.

Az MTA SZBK létrehozatala is elsősorban az ő érdeme volt, itt is sikerült sok mindent megvalósítani a régi szellemből, pl. az éjjel-nappal nyitvatartó könyvtárat, az 5 órás teákat, a futballozást stb. Ennek ellenére mégis úgy érzem, valami hiányzik abból a régi szellemből, ami bennünket akkor olyan boldoggá tett, hogy végre elkezdhetjük a szabad, szép tudományos munkát. A mostani fiatalokból talán tulságosan hiányzik

az a lelkesedés, ami bennünk még meg volt, - csak kivételesen dolgoznak önzetlenül éjjel-nappal, ahogy mi tettük, az "életüket" nem az intézetben élik. A Prof is már csak látogatóba jár hozzánk.

Talán jó volna mindent előlről kezdeni, hogy újra egy nagy családként az Intézetet érezzük igazi otthonunknak.

WOLLEMANN MÁRIA



Biochimica et Biophysica Acta, 321 (1973) 210-219
© Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam - Printed in The Netherlands

BBA 66998

STUDY OF CORRELATION BETWEEN STRUCTURAL MOTILITY AND REACTIVITY OF SH GROUPS IN α -AMYLASE

MARIANNA TELEGDI AND F. B. STRAUB

Enzymology Department, Institute of Biochemistry, Hungarian Academy of Sciences, Budapest (Hungary)

(Received March 12th, 1973)

SUMMARY

1. The two masked SH groups of pancreatic α -amylase (α -1,4-glucan 4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1) react with 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoate) following first-order kinetics, when EDTA is present. Since the reaction is not accelerated on prolonged preincubation of amylase with EDTA, local fluctuation of the polypeptide chain is supposed to be the rate-limiting step of the reaction.

2. As a result of this reaction of the two SH groups, either one intramolecular, or two mixed disulfides are formed, depending on the relative concentrations of the enzyme and 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoate).

3. In 7 M urea one SH group becomes unmasked due to the partial unfolding, while the reaction of the other SH group is still limited by fluctuation of the relevant part of the protein molecule.

4. Oxidation of SH groups by 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoate), or the formation of mixed (enzyme-2-nitro-5-mercaptobenzoate) disulfide does not influence the enzyme activity, but decreases its stability.

Eur. J. Biochem. 96, 503-507 (1979)

Artifacts Imitating Aging of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in Human Erythrocytes

Oliver RACZ, Etelka BISZKU, and F. Brunó STRAUB

Institute of Enzymology, Biological Research Center, Hungarian Academy of Sciences, Budapest

(Received October 23, 1978/February 7, 1979)

F E B S

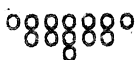
THE FEDERATION OF EUROPEAN
BIOCHEMICAL SOCIETIES

ADVANCED COURSE
ASPARTIC PROTEINASES AND
THEIR INHIBITORS

PRAGUE, CZECHOSLOVAKIA
AUGUST 20-24, 1984

TOPICS OF THE COURSE

- Aspartic proteinases and their inhibitors
- Occurrence aspects: existence in biological systems, methods of search and isolation
- Structural aspects: studies on covalent structures by amino acid and DNA sequencing, elucidation and interpretation of tertiary structures, mapping of active and binding sites
- Evolutionary aspects: sequence homology, ancestral proteinase, homologies in secondary structure, domains and half-domains as relics of the process of gene fusion
- Catalytic aspects: mechanism of action, design of specific substrates, methods of investigation of precursor activation
- Physiological aspects: role under physiological and pathological conditions, use in diagnostics
- Commercial aspects: rennet substitutes, their testing, production by gene manipulation



14th International Symposium on the Chemistry of Natural Products

9-14 July 1984
Poznań-Poland

Polish Travel Office ORBIS
Congress Bureau
P.O. Box 146
00-950 Warsaw, Poland

PLACE AND DATE OF THE COURSE

The lectures, problem-solving sessions, and practical demonstrations will take place on the campus of the Prague Agricultural Institute, situated on the northwest outskirts of the town. Accommodation for the participants will be provided in single bedrooms in the student hall of residence, catering in the student cafeteria, both localized on the campus.

REGISTRATION FEE

The fee of DM 400 includes admission, printed materials and accommodation (room 5 nights and full board for the days of Monday, August 20-Friday, August 24, 1984).

PRELIMINARY REGISTRATION

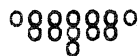
Those interested in the attendance of the course are asked to fill out the enclosed PRELIMINARY REGISTRATION FORM and to mail it to the address of the course secretariat as soon as possible. Detailed information and the final registration form will be mailed together with the Second Circular at the beginning of 1984.

CORRESPONDENCE

All inquiries concerning the Course and the correspondence should be addressed to:

Dr. V. Kostka

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry
Czechoslovak Academy of Sciences
Flemingovo 2
16610 Praha 6
Czechoslovakia



Symposium Secretariat
c/o Institute of Bioorganic Chemistry
Polish Academy of Sciences
ul. Noskowskiego 12/14
61-704 Poznań, Poland

DEADLINES

Poster registration
and abstract
Registration
Accommodation and
transfer reservation

Form A: January 10, 1984
(postmarked)
Form B: March 31, 1984
Form C: March 31, 1984

FEHÉRJÉK TÉRSZERKEZETÉNEK EGYENSÜLYI DINAMIKÁJA
A KÖRNYEZETI HATÁSOK ÁLTAL KELTETT SZERKEZETVÁLTOZÁSOK MECHANIZMUSA

We have to admit that steric structure of an enzyme is fluctuating between a number of slightly different conformations in the same environment and it may suffer pronounced changes if this environment is changing, yet all the time it remains the native protein.

F.B. Straub, 1964 (1)

A hatvanas évek elején a legnagyobb hatású esemény a biokémiában az első röntgen krisztallográfiás adatokból származtatott fehérje szerkezet volt (2,3). Az eddigi spekulációk egy része a fehérjék térszerkezetéről bizonyítottá vált. A krisztallográfiás úton meghatározott átlagos atomi koordináták alapján háromdimenziós fehérje modellek épültek. Ezekre a szemléletes, statikus modellekre alapozva értelmezték a fehérjék kölcsönhatásait és funkcionális tulajdonságait.

Ebben az időben végeztem én Debrecenben a fizika szakot, és abban, hogy végül a "Karolina úton", a Biokémiai Intézetben kezdtem el kutatói pályafutásomat, nagy szerepe volt egy, Straub professzorral folytatott beszélgetésnek. A fehérjék térszerkezetéről és a röntgen krisztallográfiáról volt szó. A képzésünkben elég nagy hangsúlyt kapott a statisztikus fizika és nekem nagyon megtetszett, hogy a beszélgetésben eloszlás függvényekről, fluktuációról, a szerkezet flexibilitásáról esett szó. Ugy éreztem, hogy e téren valóban helye van a fizikai elvek és módszerek alkalmazásának.

A Straub féle felfogás a fehérjék térszerkezetének flexibilitásáról (1) a Koshland féle "induced fit" új értelmezését adta. A jelenség intramolekuláris mechanizmust is ajánló értelmezése, a fluktuációs fit (4), bár voltak előzményei (5), és mélyen belegondolva az anyag természetéből következik, nem számított ortodox nézetnek abban az időben, s mint minden ami megelőzi korát, jobbra visszhang nélkül maradt. Egy új módszerrel történő megközelítésre, a proton NMR térhódítására volt szükség e területen, hogy a hetvenes évek végén a molekuláris dinamika feléledve, végleg elfoglalja helyét az enzimikus folyamatok értelmezésében.

Egyetemi tanulmányai során beidegződnek bizonyos gondolatok az emberbe, a "nyúltság" dinamikus anyag fogalma ilyen volt az én esetemben. Éreztem, hogy a dolgokat pl. enzimek működését, teljes mélységében csak e felfogás alapján lehet megérteni. Szerencsémre Straub F. Brunó professzor már pályám kezdetén megfogalmazta ezeket a kérdéseket, világosan, egyszerűen és a fizikus számára korrekt professzionista módon. A dinamikus koncepció mint munkahipotézis tehát megvolt. Beszélgetések során az is kiderült, hogy a konkrét enzimikus folyamatok kísérleti megközelítése, a szerkezet fluktuációinak térbeli és időbeli leírása nem egyszerű feladat. Egyrészt igen sok paraméter egyidejű mérését kell megoldani, másrészt nagyon gyors, pico-nanosec tartományba eső folyamatokat kell követni. A ma térnyerő módszerek, az NMR és az időfeloldásos spektroszkópia

alkalmazása a hatvanas években, technikai okokból, nem volt járható út.

Linderström-Lang (6) ismerte fel, hogy e gyors folyamatokat relaxációs módszerekkel is lehet analizálni, pl. H-D kicserélődés alkalmazásával, de ez a módszer akkor nehézkes és kiforratlan volt.

1964-ben Engelhardt professzor 70. születésnapja alkalmával tudományos szimpoziumot rendeztek, amelyen Straub F. Brúnó a "fluktuációs fit" elméletet fejtette ki (4). Ebben az időben dolgoztam Ya.M. Varshavszki-nál Moszkvában, a Molekuláris Biológiai Intézetben. Neki nagyon tetszett ez az elmélet, s metodikai megközelítésre ő javasolta a hidrogén-deutérium kicserélődés alkalmazását infravörös spektroszkópiás detektálással. Sikertült L.V. Abaturóvval Moszkvában és Budapesten bevezetni a H-D kicserélődés mérésének pontos, rutinszerű módszerét. A sűrűség mérésre alapozott detektálás helyett a spektroszkópiás eljárás sok előnyt hozott. Egyszerű, gyors, folyamatos és pontosabb, valamint csoportszelektív. A hidrogén izotóp kicserélődés módszere elsősorban a molekula egészének viselkedéséről ad felvilágosítást. Ilyen tekintetben előny, hogy az infravörös spektroszkópiás detektálás módot nyújt az amid hidrogének kicserélődésének szelektív követésére. Ezek a "riporter" csoportok egyenletesen vannak elosztva a molekulában. Az eltemetett csoportok kicserélődését a fehérje molekula spontán szerkezeti fluktuációi teszik lehetővé, érintkezésbe hozva ezeket az oldószerrel.

Két vonalon folytattuk a munkát a H-D kicserélődés módszerének birtokában; az egyik a finom konformáció változások detektálása, a ligandok és környezeti tényezők hatásának vizsgálata, a másik a fehérjék térszerkezetének és szerkezetváltozásainak mechanizmusának vizsgálata a dinamikus felfogás alapján.

A kisvalószínűségű konformációs izomerek detektálása olyan fizikai kémiai módszerekkel amelyek átlagértékeket tükröznek nem lehetséges. A relaxációs módszer pl. a H-D kicserélődés képes "megfogni" ezeket a ritka eseményeket, mivel a reverzibilis események irreverzibilis következményekkel járnak /izotóp csere/. A nativ globuláris fehérjék esetén a transzkonformációs reakciók egyensúlyi állapotú sokkal kisebbek egynél. Értéküket a nyitott és zárt konformációk közötti szabadenergia különbség ΔF_0 határozza meg. Definiálhatunk egy fizikai mennyiséget a molekula konformációs stabilitásának jellemzésére a H-D kicserélődéssel összefüggésben. Ez a mennyiség az az átlagos szabadenergia különbség $\overline{\Delta F_0}$, amely a nativ fehérje konformációs stabilitásának mértéke a denaturációs hőmérséklettől távol. Ez az érték a molekula szerkezeti flexibilitásának is mérőszáma, és érzékeny indikátora a környezeti tényezők által, a molekula dinamikus viselkedésében okozott változásoknak. A fehérjék működésével kapcsolatos szerkezetváltozások lehetnek olyanok amelyek az átlagos atomi pozíciók megváltozásával járnak - ebben az esetben beszélünk a szó klasszikus értelmében - szerkezetváltozásról, és ezen változások kimutatása általában nem okoz módszertani gondot. Másrészt vannak esetek, amikor a szokásos fizikai-kémiai módszerek /röntgen krisztallográfia, spektroszkópia, ORD, CD, stb./ nem jeleznek szerkezetváltozást, mégis észleljük

bizonyos tényezők működést szabályozó hatását. Ilyen eset pl. az antigén kapcsolódása az immunglobulinokhoz, vagy az immunglobulinok nehézláncjai közötti diszulfid hidak szelektív redukciója. Ezekben az esetekben $\overline{\Delta F}_0$, a "mikrostabilitás" H-D kicserélődés útján történő mérésével mutattuk ki a molekulaszervezet dinamikus viselkedésének, térszerkezeti motilitásának változását, s adtunk erre kvantitatív mérőszámot (7,8). A képet a csoportok lokális mozgékonyására érzékeny spin próbákkal, proton NMR mérésekkel (9) és a fajhő mérésével (C_p) finomítottuk (6).

Ha összevetjük egymással a röntgen krisztallográfiás adatok alapján alkotott fehérje szerkezet modellt és a hidrogén izotóp kicserélődés vizsgálata során szerzett tapasztalatainkat, egyik oldalról a szerkezet tömörsége, jó térkitöltése és állandósága dominál, másik oldalról pedig a belső csoportok hozzáférhetősége.

Ez a látszólagos ellentmondás feloldható a hidrogén izotóp kicserélődés mechanizmusáról alkotott mai képünk alapján, s e kép kialakításához a mi munkánk is hozzájárult talán (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14). Saját adataink és más laboratóriumok eredményei alapján, felhasználva az utóbbi évek NMR spektroszkópia segítségével nyert adatait, tehetünk néhány általános érvényű megállapítást, amelyek lehetővé teszik a fehérjék szerkezetének és működésének mélyebb megértését.

A fehérje molekula eltemetett csoportjai kisvalószínűségi, igen gyors lokális szerkezeti átrendeződések révén kerülnek kontaktusba az oldószerrel. Tudjuk, hogy a transzkonformációs átrendeződések kooperatív jellegűek, de a kooperatív egység lehet néhány szomszédos csoport, egy molekula szegmens, egy domain vagy az egész molekula. Ez a nagyfokú változathatóság a kooperatív egység méretében a valószínűségek széles, 10 nagyságrendet felölelő spektrumában nyilvánul meg. Maguk az elemi transzkonformációs folyamatok igen gyorsak, ugrásszerűek, 10^{-12} sec alatt végbemennek. Ezért a spontán szerkezeti átrendeződések effektív sebességi állandója, még nagyon kis valószínűségi eseményekre is meglehetősen nagy. Ez a magyarázata annak, hogy e gyors, kisvalószínűségi folyamatok a fehérjék működésében meghatározó jelentőségűek.

A H-D kicserélődés mechanizmusának egyre jobb megértése a fehérjék belsejében eltemetett aromás oldalláncok mozgásának kimutatása NMR spektroszkópiával, a hőkapacitás mérések, a röntgen krisztallográfiás adatok új értelmezése /hőmérsékleti faktorok/ és a paramágneses próbák alkalmazása, napjainkra nyilvánvalóvá tette, hogy a fehérjék, mint molekuláris méretű masinák, működésének megértéséhez nem megfelelő a newtoni mechanika fogalmköre és a jelenségek leírását a statisztikus mechanika nyelvén kell elvégeznünk.

Jó két évtizede a biokémia művelői közül csak kevesen ismerték fel és építettek be gondolkodásukba azt a ma természetesnek tekintett tényt, hogy a mikrovilágban a szerkezeti állandóság és mobilitás összeférő fogalmak. Straub professzor ezen kevesek közé tartozott, így akik környezetében dolgozhattak szinte magától értetődően tették magukévá ezt a felfogást.

- (1) Straub, F.B. Adv. Enzymol. 26, 89-114 /1964/
- (2) Perutz, M.F., Rossmann, M.G., Cullis, A.F., Muirhead, H., Will.G., and North, A.C.T., Nature, 185, 416 /1960/
- (3) Kendrew, J.C., Dickerson, R.E., Strandberg, B.E., Hart, R.G., Davies, D.R., Philips, D.C., and Shore, V.C., Nature., 185, 422 /1960/
- (4) Straub, F.B., i Szabolcsi, G., Molekularna ja Biologija p. 182-197. Nauka, Moskva /1964/
- (5) Linderström -Lang, K.M., and Schelmann, J.A., In The Enzymes, 2nd Ed. /Edited by Boyer P.D., Lardy, H. and Mybäck, K./ Vol. 1., pp. 443-510 Academic Press, New York. /1959/
- (6) Linderström-Lang, K., Chem.Soc. /London/ Spec.Publ. 2, 1, /1955/
- (7) Venyaminov, S.Yu., Rajnavölgyi, E. Medgyesi, G.A., Gergely, J., and Závodszy, P. Eur.J.Biochem., 67 81-86 /1976/
- (8) Závodszy, P. Jaton, J.C., Venyaminov, S.Yu., Medgyesi G.A., Mol.Immun. 18, 39, /1981/
- (9) Boyd, J. Easterbrook-Smith, S.B. Dwek, R.A., Mol.Immun., 16, 851, /1979/
- (10) Závodszy, P., Abaturóv, L.B., and Varsavszkij, J.M., Acta Biochim. Biophys. Hung. 1, 389, /1966/
- (11) Abaturóv, L.B., Závodszy, P. and Varsavszkij, J.M., Molekul.Biol. 2, 136 /1968/
- (12) Závodszy, P., Biszku, E., Abaturóv, L.V., and Szabolcsi, G., Acta Biochim. Biophys. Acad.Sci, Hung. 7, 1, /1972/
- (13) Závodszy, P. and Abaturóv, L.V. Magy.Kém.Folyóirat 80, 457 /1974/
- (14) Závodszy, P. Johansen, J.T., and Hvidt, A.A., Eur.J.Biochem., 56, 67, /1975/

F E L H I V Á S

Felhivom a tisztelt tagtársak figyelmét arra, hogy az International Federation of the Scientific Editors Association az 1981.évi ülésén /Amsterdam/ olyan határozatot fogadott el, miszerint a "kis" nyelveket beszélő országok területén dolgozó kutatók anyanyelvükön is közölhetik azokat a cikkeiket, amelyek idegen nyelven már megjelentek. Az anyanyelven való közlés nem számít "kettősközlésnek".

A Magyar Kémiai Folyóirat szerkesztő bizottsága a fenti határozat értelmében jár el. A Folyóiratban eddig csekély számú biokémiai tárgyú közlemény jelent meg, de a szerkesztő bizottság szívesen látná az ilyen közleményeket, hogy a kémikus társadalom megismerhesse a mi tevékenységünket is. Ugy vélem, ez nekünk is hasznos lenne. Számos olyan területen dolgozunk, amelyen a magyar kémikusokkal való kapcsolat gyümölcsöző lehetne.

A Magyar Kémiai Folyóirat szerkesztő bizottsága az alábbi eljárást alkalmazza : 1/ Ha a közlemény már megjelent idegen nyelvű folyóiratban, ezt lapjegyzetben kell feltüntetni és a folyóirat lektorálás nélkül közli a cikket. 2/ Ha a munka előbb kerül magyar nyelvű közlésre, akkor a folyóirat lektoráltat. Későbbi idegen nyelvű közlésnél meg kell jelölni, hogy a munka / vagy annak egy része/ - magyar nyelven már megjelent. Ez nem ronthatja a közlési esélyeket. Megjegyzem, hogy a Magyar Kémiai Folyóirat cikkeit számos rangos referáló folyóirat ismerteti.

Szabolcsi Gertrúd
 az MBE elnöke
 a Magyar Kémiai Folyóirat
 szerkesztő bizottságának
 tagja

SZAKOSZTÁLYI ÉLET

A NEUROBIOKÉMIAI SZAKCSOPORT vezetősége a szakosztály tagjainak és az érdeklődőknek figyelmét a következő rendezvényekre hívja fel :

A/ A SZINAPSZIS BIOKÉMIAJA címmel másfél napos vándorgyűlést tervez - Mátrafüreden, április 12-13-án.
Témái : Ingerületátvivő anyagok és modulátorok szintézise, raktározása, felszabadulása és receptorhoz való kötődése, valamint ezeknek a folyamatoknak a kémiai - gyógyszeres - befolyásolása.

A részvételi díj, valamint a szállás és ellátás költsége - előzetes kalkuláció szerint - kb. 800 Ft. - A részvételi szándék, továbbá előadás /poster/ bejelentését január 31-ig a következő címre kérjük : MBE Neurobiokémiai Szakosztály, 1061 Budapest, Anker köz 1-3.I.em.134.

B/ Az év kiemelkedő nemzetközi rendezvénye, a EUROPEAN SOCIETY FOR NEUROCHEMISTRY /ESN/ V.KONGRESSZUSA BUDAPESTen kerül megrendezésre augusztus 21-26 között.

Fő témái:

S z i m p o z i o n o k :

- /1/ Mechanism of neurotransmitter release
- /2/ Transmitter receptors from molecular mechanisms to functional implication
- /3/ New developments in demyelination and multiple sclerosis
- /4/ Metabolism of neuropeptides

W o r k s h o p o k

- /1/ Alzheimer disease
- /2/ Catecholamines and neuroendocrine regulation
- /3/ Monoamine oxidase inhibitors and clinical aspects
- /4/ Transmitter immunocytochemistry
- /5/ Gangliosides and neuronal plasticity
- /6/ Benzodiazepine receptor
- /7/ Cell surface macromolecules / recognition sites /

K e r e k a s z t a l m e g b e s z é l é s e k

- /1/ Neurochemistry and behaviour
- /2/ Glia and trophic factors
- /3/ HPLC in neurochemistry
- /4/ Histamine in brain function
- /5/ Neurochemistry of migraine
- /6/ Adenine nucleotides
- /7/ DNA repair in neurons
- /8/ Role of dopamine receptors in extrapyramidal system

A részvételi szándék, valamint a főtémákhoz kapcsolódó posterek bejelentése a következő címre küldendő :
CONGRESS SECRETARIAT, FIFTH MEETING of ESN Budapest 1361 POB 32

C/ Az IBRO szervezésében Szegeden augusztus 27-31 között kerül megrendezésre a

DRUG RECEPTOR BINDING ASSAYS, THEORETICAL AND PRACTICAL ASPECTS

című nemzetközi workshop. Az előzetes program szerint a kolinerg, adrenerg, peptiderg /ópiát/, benzodiazepin-, GABA- és hisztamin-receptorokkal kapcsolatos elméleti és gyakorlati kérdések kerülnek megvitatásra.

A rendezvény iránt érdeklődők részvételi szándékukat a következő címre jelentsék be :Dr.Wollemann Mária SzBK Biokémiai Intézet, Szeged, Odessza körút 62.

Dr.Wollemann Mária s.k. Dr.Husztai Zsuzsa s.k.
elnök titkár

_____o8o_____o8o_____o8o_____

F I G Y E L E M !

Whatman GF/B 2.5 cm Ø szűrők átutalással átadók.

Áruk : 116 Ft/100 db.

Érdeklődni lehet : a 201-600/286 m.á. telefonon.

ooooooooo_____o8o_____ooooooooo_____o8o_____ooooooooo

A SZTEROIDBIOKÉMIAI SZAKCSOPORT

1983. októberében tartott munkaértekezletén 8 orvosbio-

kémiai jellegű előadás hangzott el csaknem negyven résztvevő előtt. A hozzászólók nagy száma és a kialakult vita az ismertített témák időszerűségét bizonyította. Közülük a klinikai gyakorlat szempontjából kiemelendőnek tartom azt, hogy a 21-hidroxiláz hiányban szenvedő betegek korai diagnózisában és kezelésének követésében forradalmi ujitást jelent a vérfolt-17-hidroxiprogesteron módszer alkalmazása. Ennek szteroid-analitikai szempontból való finomítása további kutatást igényel. Az egész ország számára való elérhetősége pedig a módszert alkalmazó laboratórium fejlesztésének függvénye. Ez a téma központi támogatást érdemelne. Ugyanakkor speciális esetekben - a szteroidbioszintézis zavarának korrekt megállapítása céljából - modern szteroidanalitikai eljárások bevezetése látszik indokoltnak, mint pl. a kapilláris gáz - kromatográfia és a HPLC.

SZENTIRMAI Attila
szakcsoporttitkár

1983. október 21.

- Az előadások rövid összefoglalója -SZTEROID KEZELÉS HATÁSA A VÖRÖSVÉRSEJTEK ÉS A PLAZMA Na⁺, K⁺
KONCENTRÁCIÓJÁRADr. Toldi Zoltán, Dr. Endreffy Emőke
SZOTE Gyermekklinika, Szeged 6701 Pf. 471

A klinikai gyakorlatban elektrolit meghatározást főként a vérplazmából /ill. szérumból/ végzünk. Az intracelluláris tér összetételét kevésbé ismerjük. Vizsgálatainkhoz modellként a vörösvérsejteket használtuk, amelyek kation összetétel szempontjából jó párhuzamot mutatnak más sejtfeleségekkel.

Jelen vizsgálatunkban prednisolon kezelésben nem részesülő és prednisolon kezelésben részesülő nephrosis szindrómás beteg gyermek vörösvérsejt és plazma Na⁺, K⁺ koncentrációját hasonlítottuk össze egymással, valamint kontroll gyermekek eredményeivel. A prednisolonnal nem kezelt csoportban szignifikánsan magasabb, a prednisolonnal kezelt csoportban szignifikánsan alacsonyabb volt a vörösvérsejtek Na⁺ koncentrációja, mint a kontrollok esetében. A plazma Na⁺ koncentráció szignifikánsan magasabb volt a prednisolonnal kezelt, mint a prednisolonnal nem kezelt betegekben. K⁺ vonatkozásban nem találtunk lényeges eltérést, ebben szerepet játszhat a szubsztitúciós kezelés.

A szervezet összes elektrolit tartalmának felmérésére javasoljuk a plazma mellett a vörösvérsejtek Na⁺, K⁺ koncentrációjának meghatározását is.

/-/ DEPRENIL ÉS TESZTOSZTERON PROPIONÁT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA
SZEXUÁLISAN "LUSTA" HIM PATKÁNYOKONDalló János és Lekka Norbert SOTE Gyógyszertani Intézet,
Budapest, Nagyvárad tér 4. H-1089

Szexuálisan "lustának" tekintettük azokat a him patkányokat, amelyek négy hétig hetente egyszer 30 percig magas receptív-tási szintet mutató nősténnyel vizsgálva ejakulációt nem értek el.

- 1./ További 20 hétig hetente ötször vehikulummal történő kezelés során az ejakuláció intermittálva megjelenik.
- 2./ Heti háromszor 0,25 mg/kg /-/deprenil kezelés, /mely komplex módon facilitálja az agyi dopaminerg tónust /Knoll 1976, 1980/ szubkután husz hétig fokozza az ejakulációt elérő hímek számát.
- 3./ Heti ötször 100 µg/állat tesztoszteron propionát kezelés 20 hétig nem fokozza jelentősen az ejakuláló hímek számát.

- 4./ Husz hétig hetente $3 \times 0,25$ mg/kg /-/-deprenil kezelés kombinálva hetente ötször adott $100 \mu\text{g}/\text{állat}$ tesztoszteron propionáttal fokozza legerőteljesebben az ejakulációt elérő hímek számát.

Adataink szerint a szexuálisan "lusta" hímek kopulációs aktivitását a /-/-deprenil és tesztoszteron propionát kezelés jelentősen fokozza, mely az agyi dopaminerg rendszer és az androgének jelentős kölcsönhatására utal a hím szexuális aktivitásának facilitációjában.

SZÉRUMBÓL ÉS VÉRFOLTBÓL VÉGZETT 17-HIDROXIPROGESZTERON MEGHATÁROZÁSOK ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Sólyom János SOTE II. Gyermekklinika Budapest, Tüzoltó u. 7-9. 1094

Congenitalis adrenalis hyperplasia /CAH/ gyanuja esetén végzendő laboratóriumi vizsgálatok között központi helyet foglal el a beteg szérumból direkt radioimmunoassay/RIA/-val végzett 17-hidroxiprogoszteron /17-OHP/ meghatározás. A metodikát egyszerűen két irányba célszerű és szükséges továbbfejleszteni.

Az egyik irány a meghatározás egyszerűbbé, elérhetőbbé tételét szolgálja, hogy tömegesen és mégis gyorsabban lehessen elvégezni, és így tájékoztató értékhez jutni. Ezt a célt szolgálja a szűrőpapírra szárított vérből történő szteroid meghatározás. Vizsgáltuk a vérfoltból való szteroid extrakció kétféle módjával nyert 17-OHP koncentrációk és a szérumból direkt RIA-val nyert értékek összefüggését.

A másik fejlesztési irány a szérumból történő 17-OHP meghatározás specifikusabbá tétele, ami a szérum extraktum előzetes kromatográfiás szeparálásával érhető el. Beszámolunk azokról a tapasztalatokról, amiket köldökvérből ill. CAH betegek véréből nyert szérum extraktumok oszlopkromatográfiás szeparálásával szereztünk.

PROGESZTOGÉNEK HATÁSA A MÁJFUNKCIÓKRA

Dr. Gergely Judit és Dr. Kulcsár András DOTE Gyógyszertani Intézete és II. sz. Belgyógyászati Klinikája, Debrecen 4012

A progesztogének a májban metabolizálódnak. Az acetilén szubsztituenst tartalmazó készítményeket egyrészt a citokróm P-450 gátlóinak tartják, másrészt egyes enzimrendszerek induktorainak. A kontraceptív készítményekben alkalmazott norethisteron, aethinodiol-diacetat és d-norgestrel májhatásait vizsgáltuk nőstény patkányokon 30 napi kezelés után. Megállapítottuk, hogy a citokróm P-450 és b_5 valamennyi kezelés után csökkent. Nincs eltérés a májsúly és mikroszómális protein tartalomban. Ezen észlelések szerint a vegyes funkciójú monooxygenázokat nem indukálták. A citokróm P-450 dependens funkciók közül a hexobarbital narkózis idő meghosszabbodott, az aminopirin-N-demetiláze aktivitása gátolt. Nem észleltünk kóros eltérést a máj konjugáló képességében. Nem gátolták a máj specifikus funkcióját, az epe elválasztását. Változatlan a máj viz- és fehérje tartal-

ma. A glikogen állomány aethinodiol-diacetát és d-norgestrel kezelés után csökkent. Ezen adatok szerint a vizsgált progesztogének metabolizmusában mind a NADPH-citokróm P-450 függő gyors, mind a NADH-citokróm-b₅ dependens lassú folyamatok részt vesznek. A vegyes funkciójú monooxigenázokat egyik progesztogén sem indukálta. A citokróm P-450 dependens funkciókban inkább gátlás észlelhető. A metabolizmus II. fázisának szintetizáló reakcióját, valamint az epeexcretiót nem gátolták. Májkárosodásra utaló vízfelvételt nem mértünk. A glikogen redukció, mely főleg d-norgestrel után jelentős, a glikogenraktárak megfelelő mobilitását jelzi. Eredményeinket értékelve úgy véljük, hogy a vizsgált progesztogének a májfunkciókat nem károsítják, sőt kombinált szteroid kontraceptívumokban mérsékelhetik az ösztrogének nemkívánatos mellékhatásait.

ADRENALIS SZTEROIDOGENEZIS DINAMIKÁJA STRESSZ ALATT: KORTIZOL PREKURZOR FELESLEG SÖNTÖLÉSE A ZONA FASCICULATÁBAN HIDROXILÁCIÓS LÉPÉSEK UTJÁN

Kecskés Lajos, POTE Központi Elméleti Laboratórium, Pécs,
Szigeti út 12. 7624

Embernél a mellékvesekéreg zonális strukturája a pubertás alatt válik véglegessé a reticularis zona kialakulásával. Irodalmi adatok alapján gyermekeknél az 5-7 éves korban csak elszórt reticularis sejtfészek találhatók, ezért úgy véljük, hogy a szteroidviszonyokból a zóna fasciculata funkciójára lehet következtetni.

Hasi műtétek alkalmával 10 kislánynál vizsgáltuk a vizelet szteroid spektrumát gázkromatográfiával és az alábbi megfigyeléseket tettük.

Klinikai jellegű észrevételek:

- 1./ A kortizol metabolitok alapján jelentős emocionális stressz előzi meg a műtétet.
- 2./ A műtéti stressz legnagyobb a műtét napján, az ezt követő napon már csökkenés észlelhető, míg az elbocsátás napján a kortizol metabolitok értéke a műtét előttinél alacsonyabb, de szignifikánsan magasabb, mint a nem operált kontroll csoportnál.

A szteroidogenezis dinamikájára vonatkozó megfigyelések:

- 1./ Az allo-tetrahydrokortikoszteron érték maximuma csak részben fedi a kortizolét, exkréciója elhuzódó, elbocsátáskor sem csökken a műtét előtti érték alá.
- 2./ Az androgén exkréció műtét alatt csökken, műtét után emelkedik, és ugyanezen szinten marad elbocsátáskor is.
- 3./ A C₁₉O₂/O₃ arány műtét alatt csökken, a csökkenés jelzi a 11 β -hidroxiláz aktivitás fokozódását.

4./ A pregnándiol a műtét utáni napon átmeneti emelkedést mutat, a pregnándiol a kontrollhoz viszonyítva változatlan.

Konklúzió:

- 1./ A stress hatás maximumán csökken a szteroid intermedierak áramlása az androgén utvonalon /C₁₉ pathway/.
- 2./ A stress maximuma után a kortizol produkció gyors csökkenésével szemben a kortikoszteron produkció lassan csökken, amiből a C₂₁O₄ utvonalon szteroid intermediereket sőtöltő funkciójára következtetünk. Ezt látszik alátámasztani az a megfigyelésünk is, hogy a pregnándiol és pregnándiol exkrecióban nincs lényeges emelkedés a stress alatt, tehát nincs szteroid intermedier szivárgás a fasciculata sejtekből.

TARTÓS IN VITRO INGERLÉS HATÁSA A MELLÉKVESE ZONA GLOMERULÓZA SEJTEK VÁLASZKÉPZÉSÉRE

Enyedi Péter SOEB Élettani Intézet, Budapest, Puskin u. 9. 1038.

A hormonhatások szabályozásának utóbbi években megismert módja, a célszerv érzékenységének, válaszkepeségének megváltozása.

Különböző szövetekben mind az érzékenység csökkenését, mind növekedését leírták előzetes hormonexpozíció után.

Az irodalomban ellentmondásos eredményeket közöltek arról, hogy az angiotenzin II /AII/ hogyan befolyásolja a glomerulóza sejtek válaszkepeségét.

Jelen munkánkban a kérdést jól kontrollált in vitro körülmények között vizsgáltuk.

Izolált glomerulóza sejteket 8 órán keresztül szuperfuzió rendszerben inkubáltuk. A sejtek egy részét a 2. és 7. óra között A II-vel vagy 8.3 mmol/l K⁺ koncentrációjú oldattal stimuláljuk, majd statikusan inkubálva vizsgáltuk, hogyan változott a válaszkepeségük maximális választ létrehozó A II-re, káliumra, ill. ACTH-ra. A kísérletek egy részében a szuperfuzió 2.-7. órájáig aminoglutetimiddel megakadályozzuk a szteroid szintézist, hogy az esetleges végtermékgátlást vagy elhanyagolható kimerülést megelőzzük. Eredményeink azt mutatják, hogy a glomerulóza sejtek in vitro ingerlése A II-vel vagy K⁺-mal csökkenti az ezt követő ingerekre adott választ. Míg K⁺ esetében a gátlás aminoglutetimiddel kivédhető, /tehát a szuperfuzió alatti fokozott szteroid szintézishez kötött/, az A II deszenzitizáló hatását aminoglutetimid nem védte ki. Eredményeink szerint tartós A II ingerlés a glomerulóza sejtek heterológ deszenzitizációjához vezet. A deszenzitizáció - legalábbis egyik - oka a kortikoszteron-aldoszteron konverzió gátlása.

ZONA GLOMERULOSA ÉS ZONA FASCICULATA SEJTEK FINOMSZERKEZETE ÉS KORTIKOSZTEROID HORMONTERMELÉSE SZÉRUM LIPOPROTEIN-SZINT CSÖKKENÉSKOR

Dr. Szabó Dezső, Dr. Sz. Szalay Katalin és Dr. Tóth Ida 1083
MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet, Budapest, Szigony u.43,

A szerzők 48 órás 4-aminopirazolo-/3,4-d/-pirimidin kezeléssel,

a szérumban lipoprotein-szint 80 %-os csökkenését idézték elő patkányokban, majd a zona glomerulosa és a zona fasciculatából izolált mellékvesekéreg-sejtek szerkezetét és működését vizsgálták. A zona glomerulosa sejtek sem morfológiailag sem ACTH-val stimulált aldosteron termelő aktivitásuk szempontjából nem különböztek a kontroll állatokétól. Ezzel ellentétben, a zona fasciculata sejtek lipidcseppjei jelentősen megkevesbedtek, ACTH-val stimulált kortikoszteron termelő aktivitásuk erősen csökkent. Az eredmény arra utal, hogy a szérumban lipoprotein-szint jelentős csökkenése ellenére, a zona glomerulosa sejtek képesek megfelelő mennyiségű lipidet tartalékolni, ezért ACTH hatására bekövetkezik az aldosteron termelés fokozódása. Az a tény, hogy a szérumban lipoprotein-szint csökkenés nem érinti egyformán a zona glomerulosában és a zona fasciculatában tárolt lipidcseppeket, többek közt eltérő lipid dinamizmusukkal függhet össze.

ACTH/MSH FRAGMENTEK HATÁSA IZOLÁLT ZONA GLOMERULOSA /ZG/ ÉS ZONA FASCICULATA /ZF/ SEJTEK KORTIKOSZTEROID TERMELESÉRE

Sz.Szalay Katalin, MTA Kisérleti Orvostudományi Kutató Intézet
Budapest, Szigony u. 43. 1083.

Korábban kimutattuk, hogy az α -melanotropinnak / α -MSH/ specifikus glomerulotrop hatása van /Szalay és Stark, 1982/. Felmerült a kérdés: az α -MSH-nak melyik fragmente vagy fragmenteinek felelős a glomerulotrop hatásért. Ezért megvizsgáltuk ACTH-/4-7/, ACTH-/6-10/, ACTH-/4-10/ és ACTH-/11-13/ hatását 10^{-9} - 5×10^{-4} M koncentrációban izolált zona glomerulosa /ZG/ aldosteron és kortikoszteron és izolált zona fasciculata /ZF/ sejtek kortikoszteron termelésére.

ACTH-/4-7/ legkisebb hatékony dózisa azonos mindkét sejtszisztéma szteroid termelésénél: 10^{-4} M a ZG aldosteron termelését $500 \pm 78\%$ -kal / $\bar{x} \pm S.E.M.$ /, a ZF kortikoszteron termelését $917 \pm 108\%$ -kal növeli. Hasonlóan azonos a legkisebb hatékony dózisa az ACTH-/6-10/-nek mindkét sejtszisztémán, de az emelkedés mértéke az előzőnél lényegesen kisebb: 2×10^{-4} M ACTH-/6-10/ az aldosteron termelés $44 \pm 2,6\%$ -kal, a ZF kortikoszteron termelését $56 \pm 10,7\%$ -kal növeli. Az ACTH-/4-10/ legkisebb hatékony dózisa különböző a ZG és ZF sejtek szteroid termelésénél: $1,5 \times 10^{-5}$ M és 3×10^{-5} M ACTH-/4-10/ a ZG aldosteron és kortikoszteron termelést növeli /aldosteron $\Delta\%$: $31 \pm 1,27$ és $74 \pm 3,7$ /, míg a ZF kortikoszteron termelést nem befolyásolja. Nagyobb dózisban / $1,6 \times 10^{-3}$ M/ már a ZF kortikoszteron termelést is fokozza. Az α -MSH C terminális része, az ACTH-/11-13/ a ZG aldosteron termelését $5,8 \times 10^{-5}$ M koncentrációban 26% -kal, 2×10^{-4} M koncentrációban 239% -kal növelte, míg a ZF kortikoszteron termelésénél mérve a legkisebb hatékony koncentráció $4,4 \times 10^{-4}$ M volt $\Delta\%$: 90% .

Következtetés: az α -MSH glomerulotrop hatása feltehetőleg az ACTH-/4-10/ és az ACTH-/11-13/ fragmenteknek tulajdonítható. Ezek a szekvenciák azonosak a "message I" és "message II" melanophore szekvenciákkal /Eberle és Schwyzer, 1975/.

Irodalom:

Szalay K.Sz., Stark E.: Life Sciences 30, 2101-2108 /1982/
Eberle A., Schwyzer R.: Helv.Chim.Acta 58, 1528-1535 /1975/



13th International Congress of Biochemistry



AMSTERDAM, THE NETHERLANDS, AUGUST 25-30, 1985

FIRST ANNOUNCEMENT

The scientific program of the Congress will include a daily plenary lecture, symposia with invited speakers, colloquia and poster sessions. The colloquium speakers will be selected from the contributors to the poster sessions. Symposia and colloquia will cover topics within the following subject areas:

1. The Genome: structural organization and replication
2. Gene expression and transcriptional controls
3. Nucleic acid - protein interactions, including protein biosynthesis
4. Protein structure and function, including enzymology
5. Metabolic regulation
6. Membrane structure and functions
7. Bioenergetics
8. Cellular growth, differentiation and transformation
10. Molecular and cellular immunology
11. Molecular mechanisms of disease
12. Applied biochemistry, including biotechnology, biochemistry in agriculture, environmental biochemistry and biological production of industrial chemicals and fuels.

A copy of the first announcement containing further details may be had from the address below.

The second announcement, containing full details of the Congress, will be sent only to those who provide the following information.

- A. Name, title, address and phone number
- B. Number(s) of accompanying person(s)
- C. Intention or otherwise to present a poster
- D. The subject area(s) (by number, see above) of interest

Mail to: 13th International Congress of Biochemistry
c/o Organisatie Bureau Amsterdam
Europaplein
1078 GZ Amsterdam, The Netherlands
Telephone (020) 440807; Telegram ORBU Amsterdam; Telex 13499 RAICO nl

INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY



FELLOWSHIPS

FOR ATTENDANCE AT THE 13TH INTERNATIONAL CONGRESS OF BIOCHEMISTRY

AMSTERDAM, THE NETHERLANDS, AUGUST 25-30, 1985

IUB and the Organizing Committee of the 13th IUB Congress will together make available awards to assist younger biochemists who wish to attend the Congress. Primary consideration will be given to residents of countries where the practice of the science of biochemistry is in the early stages of development.

The Fellowships will support part of the cost of travel (normally up to a maximum of half the listed economy air fare or 70% of the Apex fare, whichever is lower) and subsistence during the Congress. The Organizing Committee of the Congress will waive the registration fee for Fellowship holders.

Applications should include the following information:

1. Name and date of birth
2. Citizenship, residence
3. Place of work, including full postal address
4. Nature of work
5. List of publications
6. Do you intend to present a contribution at the 13th IUB Congress?
If so, indicate its tentative title
7. Support available or expected to be available to the applicant
8. Names of three referees, one of whom should, if possible, not live in the applicant's country of residence

This notice should be shown to the referees, and applicants must ask them to write to Dr. R.L. Hill, at the address below, to reach him by August 15, 1984.

Applications must be made in triplicate and as early as possible, arriving no later than August 15, 1984, to: Dr. R.L. Hill, Department of Biochemistry, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina 27710, U.S.A.

It is hoped to make known the decisions of the Selection Committee by December 1, 1984.



A KAMMER DER TECHNIK NEMZETKÖZI RÉSZVÉTELŰ MŰSZAKI - TUDOMÁNYOS

RENDEZVÉNYEI / 1984 / közül a következőre hívjuk fel a figyelmet :

A modellezés és a szimulációs technika alapjai a biológia és az ökonomia területén.

A Mérési és Automatizálási Tudományos Társaság /WGMA/ szakmai ülése, ROSTOCK, 1984 december.

A rendezvényen a szocialista országok műszaki tudományos szervezeteinek képviselői devizamentes cserealapon vehetnek részt.