

BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület
tájékoztatója

Quarterly Review of the
Hungarian Biochemical Society

Szerkesztő bizottság : Alkonyi István, Bagdy Dániel, Bánfalvi
Gáspár, Elődi Pál, Falus András, Fésüs
László, Geregely Pál, Huszti Zsuzsa,
Nyeste László és Sarkadi Balázs

Felelős szerkesztő : Bagdy Dániel
Technikai szerkesztő : Bölöni Erzsébet

A tartalomból : A 8. Nemzetközi Immunológiai Kongresszus (Budapest)
magyar résztvevőinek munkáiból

A véralvadás peptid és aminosavszármazék
inhibitorai

Új eljárás a DNS szintézis citometriás mérésére

Nyílt levél a felsőoktatási tanreform ügyében

A hazai biotechnológiai ipar néhány jellemző
vonása.

Biological Fundamentals Important for a Future
European Biotechnology

A Széchenyi-díjas trombingátló

Contents	Synthetic Peptides in the Search for T and B Cell Epitopes
	Novel regulators of the Humoral Immune Response
	Transmembrane Signalling in T Cells
	Peptide and Amino Acid Derivative Inhibitors of Blood Coagulation
	A Novel Cytometric Assay for DNS Synthesis
	Some Characteristics of Industrial Biotechnology in Hungary
	An open letter : Educational Reforms at Eötvös Lóránd University
	A Thrombin Inhibitor Distinguished by Széchenyi Prize

E számunk szerzői : Apáti Ágota Semmelweis OTE I. Kémiai-Biokémiai Int.

Arányi Péter CHINOIN - SANOFI

Bánfalvi Gáspár Semmelweis OTE I. Kémiai-Biokémiai Tanszék

Damjanovich Sándor DOTE Biofizikai Intézet

Erdei Anna Eötvös Lóránd Tudományegyetem Immunológiai Tanszék

Gráf László Eötvös Lóránd Tudományegyetem Biokémiai Tanszék

Nyeste László BME Mezőgazdasági Kémiai Technológiai Tanszék

Pühler, A. Bielefeldi Tudományegyetem Genetikai Tanszék

Rajnavölgyi Éva Eötvös Lóránd Tudományegyetem Immunológiai Tanszék

Schweighoffer Edina Semmelweis OTE I. Kémiai-Biokémiai Tanszék

Schweighoffer Tamás

Szóllósi János DOTE Biofizikai Intézet

Trón Lajos DOTE Orvosbiológiai Ciklotron Laboratorium

Uher Ferenc Eötvös Lóránd Tudományegyetem Immunológiai Tanszék

Bagdy Dániel Gyógyszerkutató Intézet Kft.

**8th International Congress of Immunology
Budapest, Hungary August 23-28, 1992**



organized by the
Hungarian Society for Immunology
under the auspices of the
International Union of Immunological Societies
(IUIS)



Egy készülő magyar immunológia-történet (átmenetileg)záró fejezetét ajánlom a Biokémia tanult olvasóinak figyelmébe. Az immunológusokat jellemző szerénységem tiltja, hogy a 8.Nemzetközi Immunológiai Kongresszusra szakértő kezek által összeállított mű tervezett címét (A magyar immunológia mesterei) is megemlítsem. Jóllehet, ha kutatási feltételeinket az itt összefoglalt eredményekkel összevetjük, igazán nem kell szégyenkez-nünk, ha a régi idők mestereire utalunk.

Bízom benne, hogy kiváló biokémikusaink a világ immunológusainak min-dennapi olvasmányát jelentő rangos Immunology Today számára készült, és a kongresszus alkalmából kiadásra került összeállítást olvasván mohón keresik majd a kollaborációt velünk. Ennek eredményéről majd a következő Budapesten megrendezésre kerülő immunológiai világkongresszus alkalmából - az akkor majd a világ immunológusainak mindennapi olvasmányát jelentő rangos- Biokémia hasábjain számolunk be.

Lectori salutem.

Gergely János

Az Immunology Today augusztusi száma (1992, 13/8) a magyar immunológiai kutatások főbb vonulatait mutatja be a budapesti világkongresszus alkalmából. Ebből veszünk át tanulmányokat szeptemberi és decemberi számunkba Gergely professzor, a világkongresszus elnöke egyetértésével és fenti bevezetőjével Falus András szerkesztői tevékenysége nyomán.

ooooooooo
ooooo

„A biokémia maradéktalanul betölti a műveléséhez és közzété-teléhez kínálkozó teret és időt.”

(Hersh törvénye - Arthur Bloch - Murphy törvénykönyve -
GONDOLAT, Budapest, 1985)

SYNTHETIC PEPTIDES IN THE SEARCH FOR T AND B CELL EPITOPES

Eva Rajnavölgyi

Summary

In this article, Éva Rajnavölgyi describes two aspects of the rigorous application of organic chemistry to the task of synthesizing peptides that can induce immune responses. First, the development of viral peptides that can activate T and B cells without the need for carrier molecules and second, the production of a new generation of immunologically inert carrier molecules.

Based on theoretical and experimental organic chemistry, a traditional strength of Hungarian science, a fruitful collaboration has been developed between immunologists and peptide chemists. These studies have followed two lines of investigation. First, the identification and characterization of T- and B-cell epitopes on viral proteins, using synthetic peptides. Secondly, the development and detailed analysis of a new family of synthetic branched polypeptides designed for carrier function.

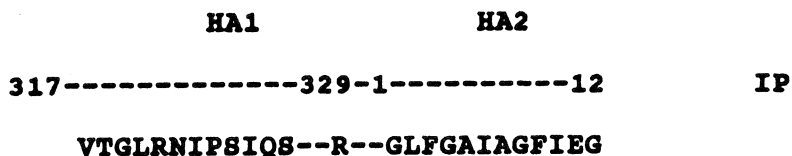
Epitopes of the intersubunit region of influenza virus hemagglutinin

A twenty five amino acid long synthetic peptide (IP), comprising the uncleaved form of the highly conservative intersubunit region of influenza virus hemagglutinin (HA) is immunogenic in BALB/c mice without the administration of any carrier. Requirements for T- and B-cell recognition was studied by IP and its subfragment peptides representing the cleaved form of HA, i.e. the C-terminal of the HA1 subunit and the N-terminal 12 amino acids of HA2, known as the "fusion peptide" (Fig.1).

Fig. 1

Location and amino acid sequence of the intersubunit region of influenza virus hemagglutinin

The uncleaved form of the intersubunit region of influenza virus hemagglutinin



fusion peptide

These results revealed the location of a T-cell epitope in HA1 the recognition of which was not influenced by the elimination of Arg329 corresponding to the cleaved form of HA. However, MHCII restricted T cell recognition of this epitope was determined by the route of HA processing as peptide primed T cells could be activated by HA processed and transported via the endogenous route, only. As the uncleaned and cleaved forms of HA are rigorously sequestered to different intracellular compartments, these results suggest that efficient processing of HA resulting in this peptide has occur prior the functionally essential posttranslational enzymatic cleavage of the intersubunit region (unpublished results).

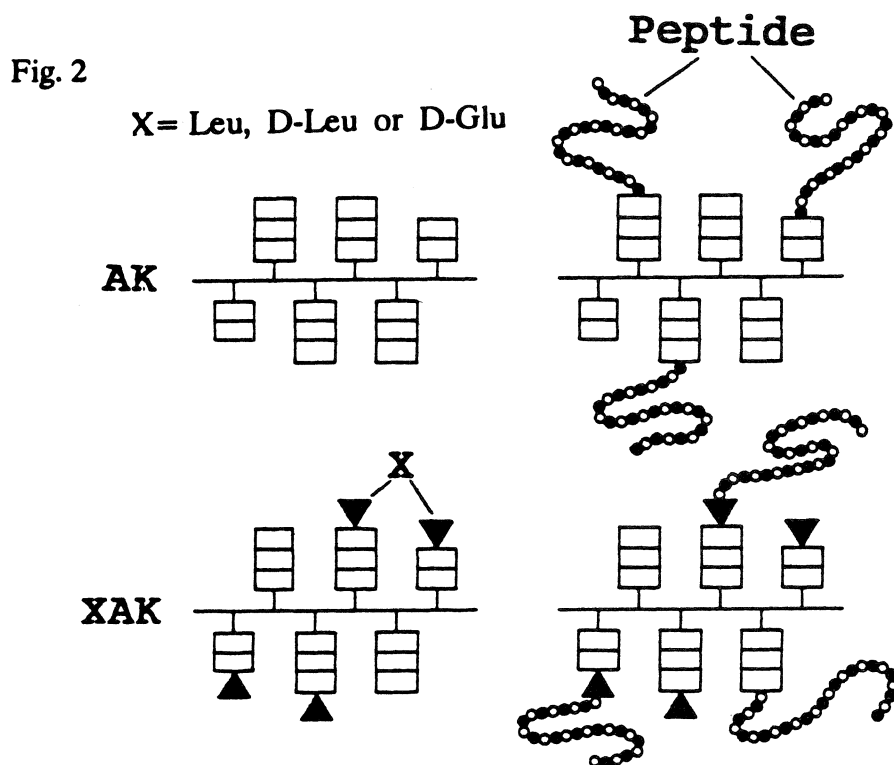
Antibody recognition was proved to be dependent on the highly ordered conformation of the intersubunit region, as IP specific monoclonal antibodies isolated from virus infected or peptide immunized mice recognized the uncleaned form of HA but did not react with the subfragment peptides of IP1.

Detailed analysis of the conformation of IP and its subfragment peptides indicated that a transition from α -helical to β -sheet conformation occurs in IP and in the fusion peptide when they interact with the hydroxyl-rich surface of sugar coated micelles in aqueous solution. This phenomenon is related to the role of this region in the membrane fusion event, to the stabilization of a B cell epitope and to the potency of the N-terminal region of IP promoting peptide-MHC interaction^{1, 2}. The rare combination of conserved amino acid sequence, the highly ordered tertiary structure and the presence of both T- and B- cell epitopes suggests a promising candidate for a peptide vaccine that does not need to be delivered using a carrier molecule.

Synthetic branched polypeptides as carriers

In order to select peptides with potential as carrier molecules, we undertook a systematic study of the chemical, pharmacological, biochemical and immunological properties of branched polypeptides differing in their side chain structure (amino acid composition, sequence), based on a poly[L-Lys-(DL-Ala)₂] backbone (Fig.2). These studies revealed that the tertiary structure³, pyrogenicity, cytotoxicity⁴⁻⁶, resistance to enzymatic degradation⁷ and biodistribution⁸ are highly influenced by the density, identity, hydrophylic/hydrophobic nature and absolute configuration of the side chain-terminating amino acids⁶.

T- and B-cell recognition of these peptides closely correlated with their chemical properties. The common backbone contained a restricted number of recognizable B cell epitopes but was effective in stimulating T cell activity^{10, 11}. The introduction of certain amino acids such as D-Leu, Leu or D-Glu as side chain terminating residues onto the poly[L-Lys(DL-Ala)₂] backbone resulted in the appearance of new antigenic determinants^{5, 10}. Cross reactivity



Schematic structure of the synthetic branched polypeptides and their conjugates

and specificity studies revealed that the majority of antibodies induced by these analogs recognized the DLAla₃ side chain terminated by the corresponding amino acid^{5, 6, 10}.

Covalent coupling of a synthetic hapten (phenyl-oxazolone)^{3, 4} or immunodominant peptides of Herpes simplex virus D glycoprotein¹²⁻¹⁴ directly to the backbone or to some of the grafted analogs further demonstrated the potential of these molecules to function as efficient carriers. High level of oxazolone- or peptide-specific antibodies but a low level of carrier-specific antibodies, compared to natural carriers such as bovine serum albumin or keyhole limpet hemocyanin were demonstrated¹¹. In addition, a protective immune response against Herpes simplex virus infection correlating with the intensity of the peptide specific antibody response was induced⁶.

These studies show that this family of molecules can be developed as selective immunological carriers and that application of the optimal conjugation rate and procedure allows the construction of immunogenic hapten- or peptide-conjugates for immunization and hapten-specific monoclonal antibody production^{11, 15}.

Éva Rajnavölgyi is at the Dept. of Immunology, Lóránd Eötvös University, Göd, Jávorka S. u. 14, Hungary H-2131.

References

- 1 Hollósi, M., Ismail, A.A., Mantsch, H.H. *et al.* (1991) *Eur.J.Biochem.* (in press)
- 2 Hollósi, M., Laczkó, I., Ötvös, L. Jr *et al.* (1991) *12th American Peptide Symp. MIT* (in press)
- 3 Hudecz, F. Kajtár, J., Szekerke, M. (1988) *Biophys. Chem.* 31, 53-61
- 4 Hudecz, F. Kajtár, J., Kurucz, I. *et al.* (1988) *Macromol. Chem. Macromol. Symp.* 19, 107-124
- 5 Hudecz, F., Gaál, D., Kurucz, I. *et al.* (1991) *J. of Controlled Rel.* (in press)
- 6 Rajnavölgyi, É., Hudecz, F., Mezô, G. *et al.* (1990) *ChimicaOggi* 8, 21-28
- 7 Hudecz, F., Kutassi-Kovács, S., Mezô, G. *et al.* (1989) *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 370, 1019-26

- 8 Clegg, J.A., Hudecz, F., Mezô, G. *et al.* (1990) *Bioconjugate Chem.* 1,425-430
- 9 Mezô G., Hudecz F., Kajtár J., *et al.* (1989) *Biopolymers* 28, 1801-1826
- 10 Rajnavölgyi, É., Hudecz, F., Mezô, G. *et al.* (1986) *Mol. Immunol.* 23, 27-37
- 11 Rajnavölgyi, É., Lányi, Á., Hudecz, F. et al. (1989) *Mol. Immunol.* 26, 949-958
- 12 Mezô, G., Szekerke, M. Kurucz, I. *et al.* (1989) in *Peptides 1988, Proc. 20th Eur. Peptide Symp.* (Bayer, D. & Jung, G. eds) Walter de Gruyter, Berlin pp. 701-703
- 13 Dietzschold, B., Heber-Katz, E., Hudecz, F., *et al.* (1985) in *Vaccines85* (Lerner, R.A., Chanock, R.M. & Brown, F. eds) Cold Spring Harbor Lab. pp. 227-234
- 14 Heber-Katz, E., Hollósi, M., Dietzschold, B., *et al.* (1985) *J. Immunol.* 135, 1385-1390
- 15 Hudecz, F. and Price, M.R. (1991) *J. Immunol. Meth.* (in press)
-

PÁLYÁZATI FELHÍVÁS

A Magyar Tudományos Akadémia Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézete

pályázatot hirdet 3 éves időtartamra

2 fő fiatal diplomás részére, kutatói állás betöltésére, neurofarmakológiai, neurokémiai és neuroendokrinológiai kutatások területén

Pályázati feltételek: általános orvosi vagy biológiai végzettség (angol nyelvismeret előnyt jelent), - Utolsó éves hallgató is pályázhat - .

A pályázathoz benyújtandó: önéletrajz és diploma másolat.

Bérezés: a fennálló jogszabályok szerint.

Benyújtási határidő: a pályázati felhívás megjelenésétől számított 30 napon belül.

Az állások a pályázatok elbírálásától függően, rövid időn belül elfoglalhatók.

**Cím: MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet
1083 Budapest, Szigony u. 43.
Tel: 133-1970**

**Dr. Vizi E. Szilveszter s.k.
akadémikus, igazgató**

NOVEL REGULATORS OF THE HUMORAL IMMUNE RESPONSE

Ferenc Uher, Éva Rajnavölgyi and Anna Erdei

Activation of mature B cells to proliferation and terminal differentiation is a multistep process controlled mainly by macrophages and T cells. However, there is growing evidence that B cells and other factors can also regulate humoral immune response. Here, Ferenc Uher, Éva Rajnavölgyi and Anna Erdei describe their work on the emerging role of regulatory interactions between subsets of B cells and their soluble products.

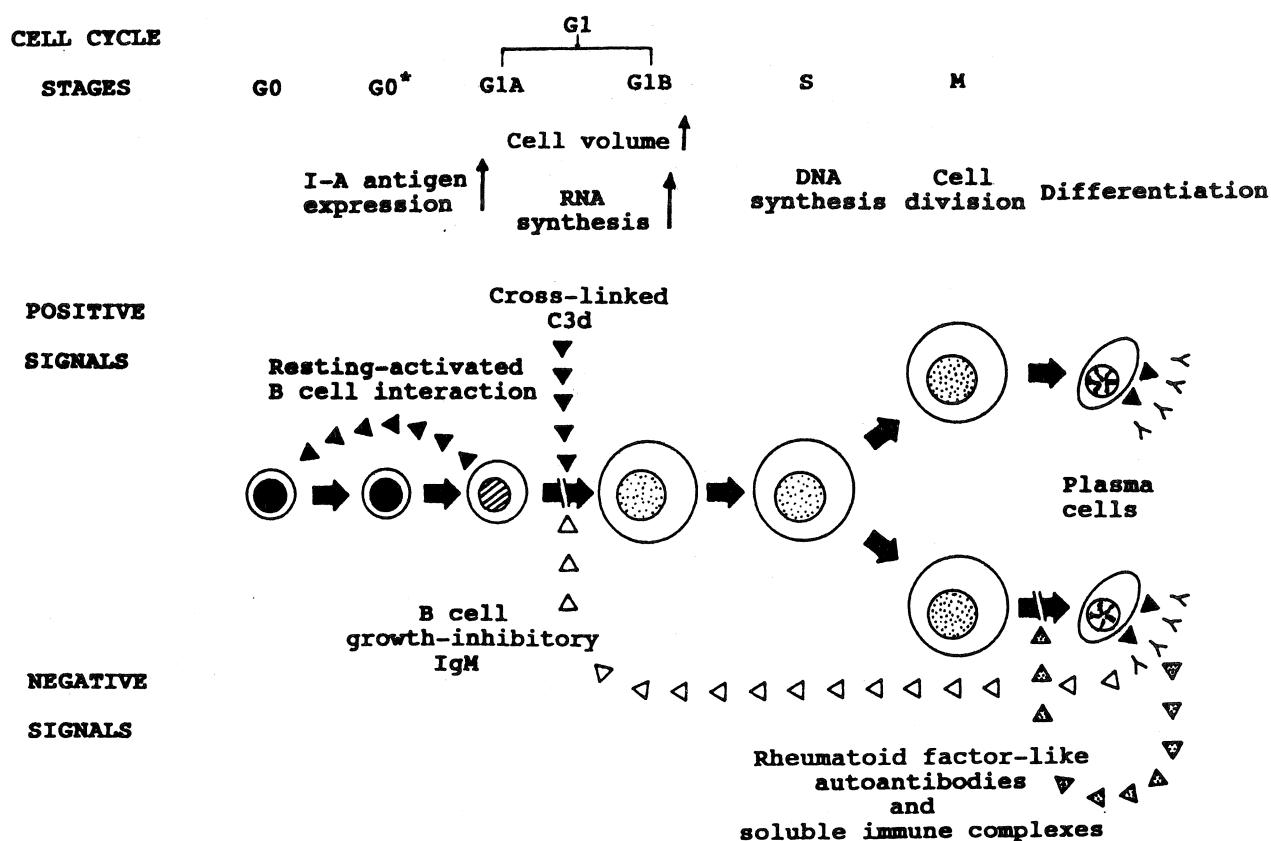


Figure Legend

Steps in the activation, proliferation and differentiation of B cells and possible mechanisms of regulation discussed in this paper.

The pathway of B cell activation can be divided into discrete stages (Fig.1). The initial step of this complex process, the G_0^* stage is marked by an increased expression of the MHC class II (I-A) antigens on the cell membrane. The next phase, G1 is characterized by cell enlargement and increased RNA synthesis and can be divided into at least two different activation states. One consists of cells in late G1 (G1B) committed to entry into S and later phases (G2/M) of the cycle. The other, however, appears to be an early transitional state (G1A) distinguishable from resting and replicating cells by intermediate cell size and RNA content. Evidence suggest that each of these steps is regulated independently^{1,2}. This allows greater flexibility in regulating response patterns before clonal expansion and differentiation into antibody secreting cells.

Positive regulators

Complement C3

Component C3, the most abundant complement protein in serum and other body fluids plays is a key molecule of both the classical and alternative pathways of complement activation. Recently it has been shown that the activation fragments of C3 play a role in the regulation of humoral immune responses by interacting with complement receptors of various immunocompetent cells. Cross-linked, but not soluble, human C3 stimulates pre-activated, but not resting, splenic B cells to proliferation. The effective portion of C3 turned out to be C3d. Cross-linked C3d can replace the action of macrophage-derived factors within the cell cycle of LPS or anti- μ antibody stimulated B lymphocytes and allows their entry into S phase. In contrast, soluble C3d inhibits the action of these factors. This implies that a C3d-specific receptor, possibly CR2, is a growth factor receptor on activated B lymphocytes that will give the cell a growth-promoting signal when it is cross-linked, while occupancy by the soluble form of C3d will result in inhibition of the action of macrophage—derived factors or

of
C3d³⁻⁵

cross-linked

Positive feedback by activated B cells

Resting and activated murine splenic B cells can be isolated on the basis of density. The response of the resting cells to anti- μ antibody and T-cell derived lymphokines is augmented by irradiated, activated B cells: proliferation is increased two to four fold and the development of polyclonal antibody-forming cell is enhanced three to six fold. The augmenting activity is unique to activated B cells in that responses are not augmented by irradiated thymocytes, T lymphoblasts, macrophages, or additional lymphokines. The interaction between activated and resting B cells does not appear to be genetically restricted and it can be reconstituted by a combination of supernatant and cell membranes from activated cells but not by either factor alone. This suggests that two components are required, one soluble and the other membrane-bound⁶. One interesting possibility is that the molecule(s) involved are the mouse equivalent of the human CD23, the low affinity Fc receptor for IgE.

Negative regulators

Inhibitory IgM autoantibody

Culture supernatants from LPS-stimulated mouse splenic B lymphocytes inhibit the growth of freshly isolated B cells via an IgM autoantibody. The inhibition is specific for B cells: suppression of the proliferative response induced by LPS, the Fc-fragment of human IgG1, dextran-sulfate, and anti- μ antibody in B cells, but not the ConA response of T cells, has been shown. Since this inhibitory IgM autoantibody does not bind to self IgG or IgM (native or aggregated), to thymocytes, to bromelain-treated red cells, to sheep erythrocytes, to DNA, to the variable portion of MHC class I and II molecules, to Staphylococcus protein A,

or to ovalbumin, it is clearly not polyreactive. However, its binding specificity has still to be defined.

The progress of LPS-stimulated B cells through the cell cycle in the presence of this autoantibody was also examined (see Fig.1). No effect on the entry of mitogen-stimulated B cells into G0* as assessed by the increased expression of MHC class II molecules, was noted, and events that characterize the early G1 phase (G1A), such as cell enlargement and increased RNA synthesis, occur whether the antibody is present or not. In contrast, events that mark the G1B phase, such as further cell enlargement and late RNA synthesis are inhibited by the regulatory IgM. This indicates a precise stage, the early G1 phase, at which the antibody inhibits further progression of LPS-activated B cells. Conversely, the regulatory IgM does not affect the increased antigen-presenting capacity of LPS-stimulated B cells. Therefore, we propose that this IgM may direct polyclonally-stimulated B cells to stop proliferating, and may play a simultaneous accessory role in permitting up-regulation of MHC class II expression, thus enhancing the ability of these cells to present antigen and receive T cell help during heavy bacterial infections in vivo^{7,8}.

Inhibitory anti-IgG2a autoantibody

In separate experiments, IgG2a-reactive autoantibody-producing hybridomas were isolated from the spleen of influenza virus-infected mice. The common functional property of the mAbs produced, whether they were IgM, IgG, and IgA, were preferential binding to complexed or aggregated IgG2a rather than to native soluble IgG2a. This functional restriction was clearly demonstrated also for membrane bound IgG2a, as these mAbs were able to bind to IgG2a positive B cells only if their antigen receptors were pre-crosslinked. Detailed analysis revealed that mAbs recognized distinct but related epitopes in the CH2 domain of the IgG2a Fc region and that the binding of the iso-allotype specific IgA mAb was highly dependent on the presence of the carbohydrate moiety of the IgG2 molecule. The binding of these autoantibodies to the Fc region did not interfere with the interaction between

IgG2a and SpA, Fc γ RI, Fc γ RII, C1q or C3 showing that these type of Ag-Ab-RF complexes can be highly potent in Fc-mediated effector functions. Passive administration of the IgM-type IgG2a-specific auto-antibodies, *in vivo*, to influenza virus-infected or oxazolone-sensitized mice resulted in a long term suppression of the secondary IgG2a antibody-response while the serum level of other isotypes was not diminished. These results suggest an isotype-specific regulatory function of these rheumatoid factor-like autoantibodies presumably acting via antigen-antibody complexes⁹⁻¹¹.

Inhibition through Fc γ receptors

It has been known for many years that immune complexes which can bind simultaneously to both B cell surface immunoglobulin (sIg) and Fc γ R inhibit B cells from differentiating into antibody secreting cells. However, the situation was less clear for IgG complexes which bind solely to Fc γ R, not to sIg. We found that, when the two membrane receptors - sIg and Fc γ R - are independently occupied by their respective multivalent ligands, inhibition of the antibody-forming cell response occurs but proliferation is not inhibited. These results suggest that a down-regulatory signal is generated by functional cooperation between Fc γ R and antigen receptors. It is possible that whenever IgG antibody-antigen complexes are formed *in vivo* in antigen excess, then the inhibitory mechanism described here would be potentially operative. Additionally, it is important to remember that the signal cooperatively generated by Fc γ R and sIg when each receptor is occupied by its separate ligand did not affect proliferation. Therefore, this signal might drive B cells to an alternate differentiation pathway, i.e., the formation of memory B cells¹²⁻¹⁴.

Conclusion

These few examples illustrate that research of the autocrine and/or paracrine regulatory pathways involved in B lymphocyte responses is still very much alive and that many unresolved questions remain, providing an exciting challenge to immunologists.

Acknowledgement - Part of this work was done in Dr F. Melcher's laboratory at the Basel Institute for Immunology (Basel) and in Dr H.B. Dickler's laboratory at the National Institutes of Health (Bethesda,MD).

Ferenc Uher, Éva Rajnavölgyi and Anna Erdei are at the Dept. of Immunology, Lóránd Eötvös University, Göd, Jávorka S. u. 14., Hungary, H-2131.

REFERENCES

- 1 Melchers,F. and Lernhardt,W. (1985) *Proc.Natl.Acad. Sci.USA* 82, 7681-7685
- 2 DeFranco,A. (1987) *Ann.Rev.Cell. Biol.* 3, 143—178
- 3 Erdei,A.,Melchers,F.,Schulz,T. and Dierich,M. (1985)
Eur.J.Immunol. 15, 184-188
- 4 Melchers,F.,Erdei,A.,Schulz,T. and Dierich,M. (1985) *Nature* 317, 264-267
- 5 Melchers,F.,Erdei,A.,Corbel,C. *et al.* (1986) *Mol.Immunol.* 23, 1173-1248
- 6 Uher,F. and Dickler,H.B. (1988) *J.Immunol.* 140, 1442-1447
- 7 Alonso,M.E.,Uher,F. and Gergely,J. (1991) *Int. Immunol.* 3, 1283-1288
- 8 Uher,F.,Alonso,M.E.,Mihalik,R. and Gergely,J. (1992) *Mol.Immunol.* (in press)
- 9 Fazekas,Gy.,Rajnavölgyi,É.,Kurucz,I. *et al.* (1990) *Eur.J.Immunol.* 20, 2719-2729
- 10 Rajnavölgyi,É.,Kurucz,I.,Fazekas,Gy. *et al.* (1990) *Mol.Immunol.* 27, 1241-1248
- 11 Gergely,J.,Sármay,G. and Rajnavölgyi,É. (1992)
CRC Reviews in Biochem. (in press)
- 12 Uher,F.,Lamers,M.C. and Dickler,H.B. (1985) *Cell Immunol.* 95, 368-379
- 13 Uher,F. and Dickler,H.B. (1986) *J.Immunol.* 137, 3124-3129
- 14 Uher,F. and Dickler,H.B. (1986) *Mol.Immunol.* 23, 1177-1181

Transmembrane signalling in T cells

Sándor Damjanovich, János Szöllösi and Lajos Trón

Summary

Transmembrane signalling to activate T cells to proliferate and differentiate is a complex multistep process. It is the focus of much current interest, mostly because a selective and well-controlled inhibition of this process will allow regulation or at least modulating of the immune response. Here, S. Damjanovich and colleagues review the contributions of Hungarian scientists to the understanding of signalling in lymphocytes in particular and cell activation in general.

Several signal transducing pathways, each triggered by different types of ligands, have been described for T and B cells (Figure 1). Antigens, certain hormones (e.g. PDGF) and lectins initiate Ca^{2+} release. A complex cascade, initiated by a phospholipase C dependent breakdown of phosphatidyl inositol, 4,5,bis-phosphate (PIP_2) into InosP_3 , InosP_4 , and diacylglycerol, cooperating with the Ca^{2+} , finally activates protein kinase C (PKC) and the cytosolic enzyme is sequestered to the membrane¹. Tyrosine kinase activity plays a dominant role in certain types of receptor-mediated signal transduction². In some of these cases tyrosine phosphorylation is the key step and neither Ca^{2+} release nor inositol phosphates or PKC play a role. The role of ion transport and membrane potential changes in lymphocyte activation is far less understood. The discovery of K^+ , Ca^{2+} , Na^+ and anionic channels in lymphocyte membranes coincided with the suggestion that they may have an active role in T-cell activation. Both calcium-activated and voltage-gated potassium channels were described in lymphocytes in the early 1980s, utilizing membrane potential-sensing dyes and patch-clamp techniques. The importance of these channels is accentuated by the recent discoveries that properties and abundance of lymphocyte plasma membrane K^+ channels are altered in a number of autoimmune diseases³. Excellent reviews and recent papers deal with the above processes in details¹⁻⁵.

Calcium and transmembrane signalling

Tordai *et al.*⁶ investigated the inhibition of CD3-mediated Ca^{2+} mobilization by PKC activators in the human T lymphoblastoid cell line, Jurkat. The intracellular Ca^{2+} level rapidly increased on addition of monoclonal antibodies (mAbs) against CD3, or of mitogens. However, PKC activators, such as phorbol ester (TPA) or 1,2 dioctanoyl glycerol did not increase $[\text{Ca}^{2+}]_i$; on the contrary, added prior to the mAbs, they

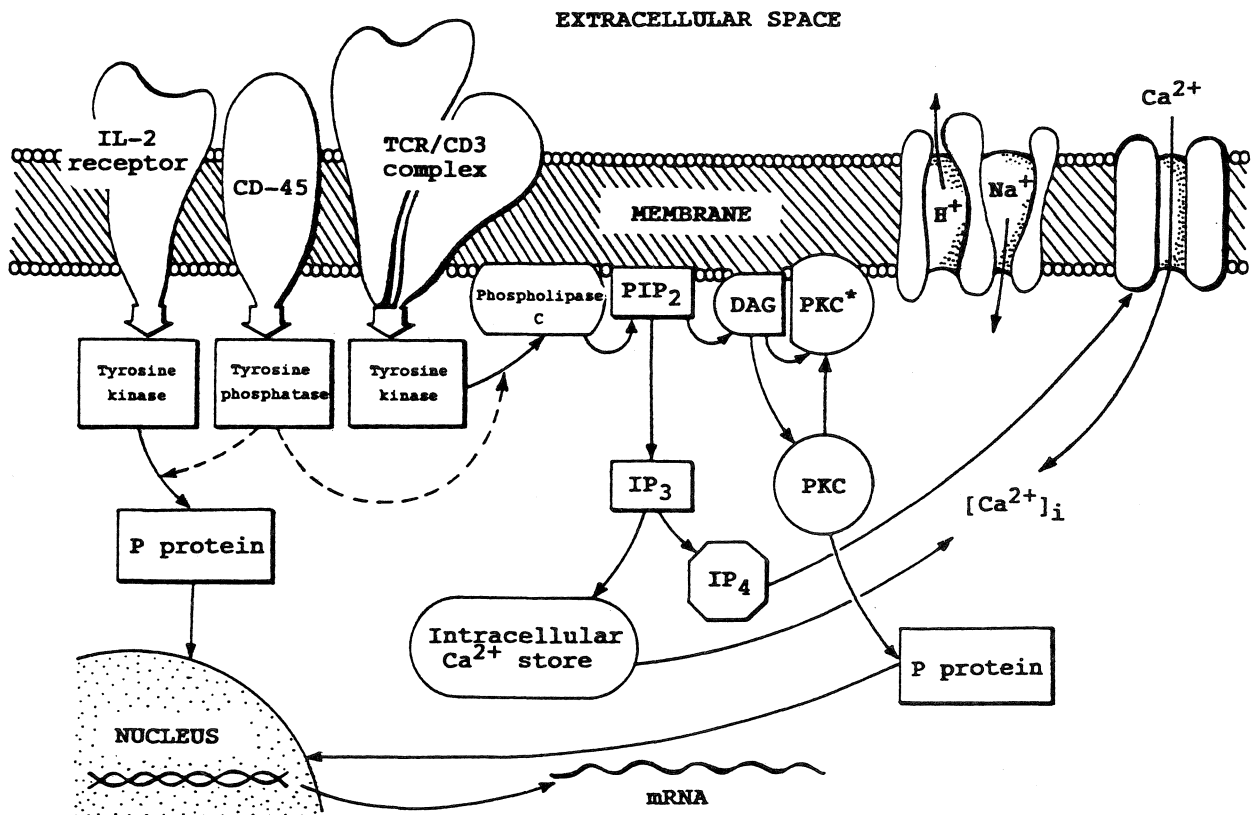


Fig. 1. A simplified schematic of two independent pathways in lymphocyte activation.

(1) Following the ligation of CD3/TCR complex the phospholipase C (PLC) is activated through the tyrosine kinase activity of the complex. PLC hydrolyses PIP_2 to IP_3 , IP_4 and DAG, IP_3 releases Ca^{2+} from intracellular calcium stores, DAG activates PKC, which regulates intracellular pH via Na^+/H^+ exchange and activates phosphoproteins playing role in gene activation. (2) After binding IL-2, the tyrosine kinase activity of the P75 peptide moiety of the IL-2 receptor complex may be directly responsible for generating phosphoproteins bypassing the PIP_2 , Ca^{2+} , PKC pathway. CD45 may regulate the signalling pathway of IL-2 receptor through its tyrosine phosphatase activity.

eliminated the mAb-induced calcium signal, suggesting that the CD3-dependent calcium signal is down regulated by the activation of PKC. The importance of these data was further emphasized by the fact that TCR-CD3 signalling is more 'physiological' than that of mitogens.

The same group⁷ have studied the regulation of stimulus- induced calcium transport pathways in human T lymphoblasts (Jurkat). Cytosolic free calcium was monitored using the fluorescent intracellular calcium chelator, indo-1, on addition of mAbs against TCR-CD3 in the presence or absence of extracellular Ca^{2+} . Information was obtained separately on intracellular calcium release and on calcium influx. Direct activation of PKC, by phorbol ester or by the permeating diacylglycerol, quickly eliminated the mAb-induced calcium signal. This effect did not depend on the presence or absence of calcium outside the cells and there was no change in the plasma membrane potential. Membrane depolarization by different agents, such as the ionophore, gramicidin, or the reversible acting sulfhydryl-specific inhibitor, parachloromercuribenzenesulfonate, which also induces K^+ - Na^+ leakage pathways, inhibited the mAb-induced Ca^{2+} influx without affecting intracellular Ca^{2+} release. The mAb-induced Ca^{2+} influx was practically independent of the extracellular calcium concentration. The data indicated a downregulation of the stimulus-induced Ca^{2+} signal by activated PKC. Thus, the receptor-operated calcium channels were selectively inhibited by depolarizing the plasma membrane. This latter effect was elaborated upon in separate work by Sarkadi *et al.*⁸, with special reference to the Ca^{2+} activated K^+ channels.

Interestingly, contemporaneous to the above investigations, Mátyus *et al.*⁹ reported that Ca^{2+} influx may regulate both Ca^{2+} -sensitive K^+ channels and membrane potential. The Ca^{2+} channels were bypassed with ionomycin, and the Ca^{2+} influx was controlled through varying the extracellular Ca^{2+} concentration. High Ca^{2+} and ionophore concentrations depolarized, while low Ca^{2+} concentrations

hyperpolarized, human peripheral lymphocytes. However, otherwise depolarizing Ca^{2+} influx had a hyperpolarizing effect on previously partially depolarized cells. Potassium channel blockers did not influence the depolarization however but did inhibit the hyperpolarization. Thus Ca^{2+} -sensitive K^+ channels appear to be regulated by voltage and the intracellular Ca^{2+} concentration. This combined regulation, particularly if set alongside the data of Sarkadi *et al.*⁸ demonstrating that the Ca^{2+} channel side of the system is voltage sensitive, suggests that Ca^{2+} influx and Ca^{2+} sensitive K^+ channels crossregulate each other through a negative feedback loop.

In order to differentiate between Ca^{2+} influx and intracellular Ca^{2+} release, Sarkadi *et al.*¹⁰ studied the effect of thapsigargin, a presumed inhibitor of the Ca^{2+} pump in endoplasmic reticulum, in combination with cell activation by mAbs directed against to CD3, on Jurkat T cells. In the absence of external Ca^{2+} , both anti-CD3 and thapsigargin caused a rapid intracellular Ca^{2+} release, while readdition of extracellular Ca^{2+} increased the influx in both cases. The Ca^{2+} was always released from the same pool in the cytosol. The simultaneous administration of anti-CD3 and thapsigargin was not additive in increasing the Ca^{2+} influx. Phorbol esters abolished the intracellular Ca^{2+} release as well as the Ca^{2+} influx triggered by anti-CD3, but left the effects of thapsigargin unimpaired. Plasma membrane depolarization also inhibited the influx selectively. A cell line, MOLT-4, which lacks functional antigen receptors, responded only to the thapsigargin in a similar way to Jurkat T lymphoblasts. These mechanisms can be studied in more detail using novel fluorescent phorbol ester derivatives¹¹. The introduction of laser image cytometry to study kinetic parameters of Ca^{2+} influx and intracellular Ca^{2+} release has already provided data on individual cells of the A-172 glioblastoma line and points towards further trends of research in immunology¹².

Ion concentrations and immune suppression

Cyclosporins, a family of cyclic endecapeptide antibiotics discovered by Borel in 1976 to be strong inhibitors of allograft rejection, have become indispensable in solid organ transplantation. Damjanovich *et al.*¹³⁻¹⁶ established that cyclosporins have a strong influence upon transport of K^+ and, Ca^{2+} and, consequently, on the membrane potential. These findings have been confirmed by Gelfand *et al.*¹⁷.

CsA was the first discovered and is the best studied member of the family. This drug is known to bind an intracellular receptor, the cyclophilin, while other, more recently discovered immunosuppressive agents, like rapamycin and FK-506, bind a different immunophilic protein, FK binding protein (FKBP). Immunophilins, after binding their respective ligands, are thought to inhibit signal transduction pathways in T cells. Their toxicity, and unique ability to differentiate between cellular and humoral immunity, is related to their ability to inhibit T-cell functions to a greater extent than those of B cells. Ca^{2+} -activated K^+ channels are more abundant in the membrane of T than of B cells, and their membrane potential and ion trafficking is affected by CsA. By measuring the intracellular free Ca^{2+} concentration with fluorescence dyes, it was established that CsA causes a dose-dependent, rapid and transient rise in human and mouse cells. Ca^{2+} channel blockers did not eliminate this effect. It has been proposed that CsA acts like an ionophore at the cell membrane level¹⁶. Ca^{2+} -activated K^+ channels play a role in the regulation of plasma membrane potential so CsA has the capacity to modulate this system too. The consequent hyperpolarization alters cell membrane potential dependent-parameters to such an extent that the signal transducing capability is lost, or at least significantly impaired. Interestingly, through binding to their particular immunophilin, the immunosuppressants regulate its rotamase activity. This enzyme catalyses the inter-conversion of cis and trans-rotamers of the peptidyl-prolyl amide bond of peptide and protein substrates¹⁸.

Recently, it was observed that a weak K^+ channel inhibitor, bretylium tosylate opens otherwise silent and ubiquitous Na^+ channels in a voltage-sensitive way in T and B cells. This finding was unexpected because only a small fraction of lymphocytes (3 %) was supposed to have voltage-sensitive Na^+ channels^{19, 20}. The opening of the Na^+ channel activated the Na^+/K^+ pump and caused a hyperpolarization of T and B cells, a phenomenon that could be inhibited by ouabain, lack of Na^+ or addition of amiloride. The hyperpolarizing effect of bretylium tosylate was insensitive to the major K^+ channel inhibitors and participation of the Na^+/H^+ exchange in the process was excluded²⁰.

Importantly, bretylium tosylate inhibited antigen- and lectin-mediated cell activation in a dose-dependent manner²¹. None of the major biochemical components of the transmembrane signalling processes were affected; bretylium tosylate was non-toxic and its timely removal reinstated signal processing without readdition of the triggering agents. It was concluded that the hyperpolarization itself was the major reason for the inhibition of cell proliferation.

This view is supported by direct observation of integral proteins changing their conformation upon changes in the membrane potential in a reversible way. These changes, followed by flow cytometric energy transfer measurements (a sophisticated method to determine proximity parameters between cell membrane elements²²⁻²⁹) provide direct evidence for the view that modulation in the membrane potential, in either direction, has a rapid fine tuning effect on bound biochemical events in the membrane (Trón, L., Várhelyi, T., Bene, L. *et al.*, 1991, submitted). Selective sensitivity can even be attained in structures which carry higher or lower amounts of charged side chains. Phosphorylation or dephosphorylation, for example can dramatically change the responsiveness of such macromolecules (mostly proteins) in a potential field.

Bretylium tosylate was tested on IL-2-primed cells as well in combination with IL-2, using similar conditions to those under which antigen- or lectin-induced proliferation of lymphocytes was prevented. Doses of bretylium tosylate decreased lectin-induced proliferation by 80% significantly enhanced the IL-2 triggered proliferation. The possible reason for opposite effects of bretylium tosylate on two different kinds of cell stimulation may be found in the different signal transduction pathways: IL-2 stimulation seems to bypass PKC activation, InosP cycle and $[Ca^{2+}]_i$ (Figure 1) increase while lectin or antigen (TCR, CD3)-mediated signal transducing processes have a large number of plasma membrane-dependent steps, such as Ca^{2+} influx or InosP degradation by phospholipase C. Although glycosylated forms of InosP products might participate in the activation process³⁰, we are inclined to believe that the tyrosine kinase activity of the intracytosolic peptide moiety of the p75 protein of the IL-2 receptor complex is the key element of activation.

In summary, the IL-2 receptor is likely to provide a direct way to initiate intracellular protein phosphorylation. This is thought to be less sensitive to a sustained membrane hyperpolarization by bretylium tosylate, which renders intramembrane molecular interaction more difficult. Membrane potential changes, hyper-, and later depolarization, are known phenomena which seem to accompany all types of cell activation processes. However, these steps are not sustained, and even their triggering ligands are frequently eliminated by a rapid internalization process. Bretylium tosylate, which differentiates between signal transducing pathways in a dramatic way, causes sustained hyperpolarization, is not internalized, and its effect lasts until ATP reserves are exhausted.

The role of CD45 and CD2

Oravec *et al.*³¹ have studied the effect of mAbs to CD45 (the leukocyte common antigen) on the CD3 receptor-mediated proliferation of human T cells. Three

different mAbs against CD45 promoted proliferation and crosslinking of the CD45 molecules was required. It was suggested that this CD45 dependent regulation of T cell activation was linked to the IL-2 pathway. The tyrosine phosphatase activity of CD45 plays an important role in CD3/TCR and IL-2 receptor coupled pathways via activating key kinases by dephosphorylation³².

Monostori has conducted numerous collaborative studies into structure-function relationships of the human T cell antigen, CD2. Activation of T cells via CD2 results in tyrosine phosphorylation of T-cell antigen receptor α -chains. Thus, signal transduction via CD2 activates both PKC and a tyrosine kinase^{33,34}.

Cell surface patterns and signal transduction

A different aspect of cell activation processes is the maintenance and changes of dynamic molecular patterns in the plasma membrane. The existence, type and possible functional significance of these cell surface patterns, and their membrane potential sensitivity have been described^{5,35,36}. Recently, a number of studies have supported the possibility that processed peptides from antigens can bind specific MHC class I components to determine or alter their molecular structure. Thus, a new form of regulation is emerging. Cell surface patterns of a topological nature, assembly and disassembly of oligomeric receptor structures and intramolecular conformation at changes within this "larger" macro pattern may have a strong regulatory role on signal transducing and intercellular recognition processes. New and emerging biochemical and biophysical methods will have a significant role to play in the discovery of the details of these dynamic avenues which are likely to open a new pathway towards the better understanding of cell to cell communication and bilateral information exchange between immuno-competent cells and their environment^{5,36}.

Sándor Damjanovich and János Szöllösi are at the Department of Biophysics, University Medical School of Debrecen, H-4012 Debrecen, Hungary

Lajos Trón is at the Biomedical Cyclotron Laboratory, University Medical School of Debrecen, H-4012 Debrecen, Hungary

REFERENCES

- 1 Berridge, M.J. and Irvine, R.F. (1989) *Nature* 341, 197-205
- 2 Ullrich, A. and Schlessinger, J. (1990) *Cell* 61, 203-212
- 3 Grissmer, S., Dethlefs, B., Wasmuth, J.J. et al. (1990) *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 87, 9411-9415
- 4 Augustine, J.A., Secrist, J.P., Daniels, J.K. et al. (1991) *J. Immunol.*, 146, 2889-2897
- 5 Damjanovich, S. and Pieri, C. (1991) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 621, 29-39
- 6 Tordai, A., Sarkadi, B., Görög, Gy. et al. (1989) *Immunol. Letter* 20, 47-52
- 7 Sarkadi, B., Tordai, A., Müller, M. et al. (1990) *Mol. Immunol.* 27, 1297-1306
- 8 Sarkadi, B., Tordai, A. and Gárdos, Gy. (1990) *Biochem. Biophys. Acta* 1027, 130-140
- 9 Mátyus, L., Pieri, C., Recchioni, R., et al. (1990) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 171, 325-329
- 10 Sarkadi, B., Tordai, A., Homolya, L., et al. (1991) *J. Membr. Biol.* 123, 9-21 11 Balázs, M., Szöllösi, J., Lee, W.C. et al. (1991) *J. Cell Biochem.* 46, 266-276
- 12 Szöllösi, J., Feuerstein, B.G., Vereb, G. et al. (1991) *Cell Calcium* 12, 477-491
- 13 Damjanovich, S., Aszalós, A., Mulhern, S.A. et al. (1986) *Mol. Immunol.* 23, 175-180
- 14 Mátyus, L., Balázs, M., Aszalós, A. et al. (1986) *Biochim. Biophys. Acta* 886, 353-360
- 15 Damjanovich, S., Aszalós, A., Mulhern, S.A. et al. (1987) *Eur. J. Immunol.* 17, 763-368
- 16 Vereb, Gy., Panyi, Gy., Balázs, M. et al. (1990) *Biochim. Biophys. Acta* 1019, 159-165
- 17 Gelfand, E.W., Cheung, R.K. and Mills, G.B. (1987) *J. Immunol.* 138, 1115-1120
- 18 Michnick, S.W., Rosen, M.K., Wandless, T.J. et al. (1991) *Science* 252, 836-839
- 19 Pieri, C., Recchioni, R., Moroni, F. et al. (1989) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 160, 999-1002
- 20 Trón, L., Pieri, C., Márián, T. et al. (1990) *Mol. Immunol.* 27, 1307-1311
- 21 Pieri, C., Recchioni, R., Moroni, F. et al. (1991) *Mol. Immunol.* in press

- 22 Trón, L., Szöllösi, J. and Damjanovich, S. (1987) *Immunol. Letters* 16, 1-9
- 23 Trón, L., Szöllösi, J., Damjanovich, S., et al. (1984) *Biophys. J.* 45, 939-946
- 24 Szöllösi, J., Trón, L., Damjanovich, S., et al. (1984) *Cytometry* 5, 210-216 25 Szöllösi, J., Mátyus, L., Trón, L. et al. (1987) *Cytometry* 8, 120-128
- 26 Szöllösi, J., Damjanovich, S., Goldman, C.K., et al. (1987) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 84, 7246-7250
- 27 Liegler, T., Szöllösi, J., Hyun, W. et al. (1991) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88, 6755-6759
- 28 Szöllösi, J., Damjanovich, S., Mulhern, S.A., et al. (1987) *Progr. Biophys. Mol. Biol.* 49, 65-87
- 29 Damjanovich, S., Trón, L., Szöllösi, J., et al. (1983) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 80, 5985-5989
- 30 Eardley, D.D. and Koshland, M.DE. (1991) *Science* 252, 78-81
- 31 Oravecz, T., Monostori, E., Kurucz, E. et al. (1991) *Scand. J. Immunol.* 34, 531-537
- 32 Klausner, R.D. and Samelson, L.E. (1991) *Cell* 64, 875-878
- 33 Brown, M.H., Monostori, E., Gullberg, M. et al. (1989) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. XIV, 627-636
- 34 Monostori, E., Desal, D, Brown, M.H. et al. (1990) *J. Immunol.* 144, 1010-1014
- 35 Damjanovich, S., Somogyi, B. and Trón, L. (1981) *Adv. Physiol. Sci.* 30, 9-21
- 36 Matkó, J., Szöllösi, J., Trón, L. et al. (1988) *Quart. Rev. Biophys.* 21, 479-544

Helyreigazítás. Előző számunkban (BIOKÉMIA 15/2. 1992. június) a „Tirozin kinázok szerepe az extracelluláris matrix citoskeleton kölcsönhatás szabályozásában” című tanulmány szerzője munkahelyét tévesen közöltük. Dr. Horváth Andrea munkahelye a Debreceni Orvostudományi Egyetem Központi Klinikai Kémiai Laboratoriuma.

oo^ooo

E számunk megjelenése előtt, de jóval nyomdába adása után - Szegeden tartja alakuló ülését Egyesületünk környezetvédelmi szakosztálya. Célkitűzéseikről és terveikről decemberi számunkban tudósítjuk olvasóinkat.

oo^ooo

A VÉRALVADÁS AMINOSAVSZÁRMAZÉK ÉS PEPTID INHIBITORAI

13+1 pillanatkép egy felfedezés ürügyén

Mottó : Az olyan ismereteket, amelyeknek a természetben nincs alapjuk, az északi erdők fáihoz hasonlíthatjuk, amelyeknek nincsenek mély gyökerei. Elég egy szélroham, elég egy csekélyke ténybeli adat és felforgatja, kitépi az egész szálfát és eszme-erdőt.

Denis DIDEROT

Sok ember dolgozik keményen, némelyik gondos megfigyelő. De világos gondolkodás nélkül, amely a megfigyelt dolgokat a megfelelő helyre rakja és helyes perspektívából szemléli, semmire sem jut.

Alexander FLEMING

1951 **B**ázikus poliaminosavak (poli-L-lizin, poli-DL-lizin, poli-DL-ornitin) és az argininban gazdag protamin felfüggesztik a heparin véralvadást gátló hatását in vitro. 100 µg/ml koncentrációban viszont gátolják a teljes vér alvadását. In vivo toxikusnak bizonyulnak. (1)

1951 **C**ambridge-i és Leeds-i kutatócsoport közös közleményben (2) ismerteti a trombin-fibrinogén reakció kémiai természetére vonatkozó kísérleteinek eredményét : a fibrinogén molekulában glicil-peptidkötések hasadnak fibrin-monomer képződése közben.

52

A fibrinogénről trombin hatására peptidek hasadnak le és ezeket a budapesti Szent-Györgyi intézetből Leeds-be került magyar kutatónak sikerül izolálnia (3,4). A fibrin-peptidek gátolják a trombin-fibrinogén reakciót.

1955 **A**z orvosi pióca 1884 óta alvadás gátló hatásáról ismert anyaga kis molekulatömegű fehérjének bizonyul, amely asszociációs komplexet képez a trombinnal. A komplexben kölcsönösen kioltják egymás hatását (5); mai ismereteink szerint a komplex specificitására jellemző, hogy a hirudin 65 aminosavából 27 (!) vesz részt benne - 10 ionpár- és 23 hidrogén-kötést létesítve).

1963 **A** Marine Biological Laboratory, Woods Hole, Mass. és a Dept. of Chemistry, Northwestern University, Evanston, Ill. kutatói anti-koagulánsok új osztályáról közölnek adatokat. Reprezentatív vegyületük, a glicin-metilészter gerincesekben specifikusan gátolja a fibrin monomer polimerizációját (6).

1967 **A** heparin felfedezése óta (1916) heparin-kofaktornak nevezett anyagot kémiailag homogén fehérjeként (67 kDa) állítják elő vérplazmából. A biológiai szabályozás molekuláris alapja fehérje(inhibitor) - fehérje(enzim) kölcsönhatás. (7)

- 1969 **A** Karolinska Institute kutatói a fibrinogén és a fibrinpeptidek primer szerkezetének felderítése során előállítják a Phe-Val-Arg-OMe tripeptidet és leírják alvadást gátló és értágító (vérnyomáscsökkentő) hatását. Inhibitor kutatásuk irányát megváltoztatják: kis molekulasúlyú szintetikus peptid-pNA szubsztrátumokat állítanak elő (8) és vezetnek be a haemosztázis analitikájába.
- 1969 **M**ikrobiológiai eredetű oligopeptidaldehideket izolálnak (leupeptinek, antipain, chymostatin) és megállapítják, hogy ezek a vegyületek gátolnak egyes proteínázokat (plazmin, papain, elasztáz). (9,10,11)
- 1972 **E**lőállítják a fibrinogén A(alfa) láncá trombinos hasítási helyének két oldalán elhelyezkedő tripeptideket és megállapítják, hogy a hasítási helyet követő Gly-Pro-Arg peptid gátló hatása erősebb a megelőző Gly-Val-Arg-énál a trombin-fibrinogén reakcióra (12).
- 1973 **A** pióca-hirudin első ipari méretű előállításának közlése (Gyógyszerkutató Intézet) a rendkívül nagy nemzetközi érdeklődésen túl - egyfelől lehetővé teszi új peptidvázas proteáz-inhibitorok felfedezését (bdellinek, eglinek), másfelől pedig az első szekvencia-analízis adatai nyomán (13,14,25) utat nyit hirudin-fragmensek szintézisére, majd a hirudin gén szintézise útján rekombináns hirudinok előállítására.
- 1975 **A** Gyógyszerkutató Intézetben tervezett és szintetizált tripeptidaldehidek világszerte széles körű és folyamatos tudományos és ipari érdeklődést váltanak ki (15,16,17).
- 1979 **E**lőállítják a D-Phe-Pro-Arg-H irreverzibilisen gátló analógját (D-Phe-Pro-Arg-CH₂Cl) és megállapítják, hogy K_i értéke nagyságrendekkel ² jobb minden korábbi irreverzibilis inhibitorénál (18). Saját, in vitro komplex alvadási rendszerekben és in vivo összehasonlító kísérleteinkben kimutatjuk, hogy az irreverzibilis analóg a célszöveten kívül a vérnek és a szöveteknek számos komponensével is reakcióba lép (19).
- 1984 **A** tripeptidaldehidek szerkezete és stabilitása valamint biológiai hatásai közötti összefüggések sok éves vizsgálata alapján 'kifejlesztett' D-MePhe-Pro-Arg-H (GYKI-14766) in vivo antikoaguláns és antitrombotikus hatás tekintetében több szempontból felülmúlja 'vetélytárs vegyületeit'. (20,21,22,23,24)

A pillanatképek mindig és mindenütt önkényesen megválasztott eseményt vagy helyzetet rögzítenek. A véralvadás peptid és a-

minosav-származék inhibitorait szemléltető idézett pillanatkép-közlemények sem kivételek ez alól. Egy lényeges nézőpontból azonban - úgy vélem - mégis különböznek minden nem természettudományos pillanatsfelvételtől : az evolúció pillanatképeinek is tekinthetők. Így aztán - az önkényes válogatás ellenére - közös motívumokat is feltárhatnak egyes kutatók számára.

Néhány következtetés ...

Akkor tanulmányozod jól a témát, ha kívülről-belülről érted, mielőtt még nekikezdenél.

(Finagle szabálya - A.Bloch : Murphy törvénykönyve)

1. A szintétikus és félszintétikus polimérek még akkor is idegenek az élő szervezet számára, ha építő elemük alkotórésze a szervezet fehérjéinek (pl. L-lizin). A polikation vegyületek alvadástgátló hatása nem specifikus, hasonlóan a polianion szerkezetűekéhez.

2. Az evolúció során kialakult alvadást gátló makromolekulák peptidvázások. A hirudin-peptid és fragmensei, a szintétikus hirudin-peptidek valamint a géntechnológiai úton előállított hirudinok trombint gátló specifikus hatása egyértelműen bizonyított, szemben a heparinokéval. Széles körű gyakorlati alkalmazásukat a trombózis megelőzésében és gyógyításában mégis korlátozza az a tény, hogy a tápcsatorna fehérjebontó enzimei gyorsan hasítják ezeket a molekulákat, így felhasználásuk parenterális adásmódokra terjedhet ki. Nem elhanyagolható tény az sem, hogy in vivo hatásos antikoaguláns és antitrombotikus dózisaik 2-3 nagyságrenddel nagyobbak bizonyultak, mint az K_i értékük alapján várható volt.

3. A kis molekulásúlyú, nem peptidvázás thrombin-inhibitorok eddig közölt in vivo mellékhatásai szoros összefüggésekre utalnak az egyes molekulák szerkezeti elemeinek sajátosságai, ezek száma és a molekulák toxicitása között. Az in vitro K_i értékük alapján leghatékonyabbnak tekinthető vegyületekből (argatroban, alfa-NAPAP) in vivo antitrombotikus és antikoaguláns hatás eléréséhez a számított értékeknél nagyságrenddel nagyobbak szükségesek.

4. A Gyógyszerkutató Intézetben tervezett és szintetizált tripeptidaldehid, a D-MePhe-Pro-Arg-H három lényeges követelményben múlja felül eddigi vetélytársait :

- hatás-specificitása in vivo is érvényesül és megfelel az in vitro mért K_i értékének;
- hatásszélessége (safety/efficacy) kimagaslóan jó : $\cong 100$, szemben nemcsak a fejlesztés alatt lévő más szintetikus trombin-inhibitorokéval, hanem a sok évtizede használatban lévő heparinokéval és orális antikoagulánsokéval is.
- közvetlen orális hatása révén egyedülálló antikoaguláns.

Mottó : Aki egy embertől lop ötleteket, az plagizál, aki többtől, az kutat. Azok a kutatók, akik a természet ötlet-tárházának osztályain nyitott szemmel járnak, még felfedezőkké is válhatnak.

BAGDY DÁNIEL

H i v a t k o z á s o k

- 1) de Vries, A., Schwager, A., Katschalski, E. *Biochem. J.* 49, 10, 1951.
- 2) Bailey, K., Bettelheim, F.R., Lóránd, L., Middlebrook, W.R. *Nature* 167, 233, 1951
- 3) Lóránd, L. *Nature* 167, 992, 1951.
- 4) Lóránd, L. *Biochem. J.* 52, 200, 1952.
- 5) Markwardt, F. *Naturwissenschaften* 42, 537 (1955),
- 6) Lóránd, L., Doolittle, R.F., Konishi, K., Riggs, S.K. *Arch. Biochem. Biophys.* 102, 171-9, 1963.
- 7) Abilgard, U. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 19, 190, 1967.
- 8) Blombäck, B., Blomback, M., Olsson, P., Svendsen, L., Åberg, G. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.* 107, 59, 1969.
- 9) Aoyagi, T., Takeuchi, T., Matsuzaki, A., Kawamura, K., Kondo, S., Hamada, M., Maeda, K., Umezawa, H. *J. Antibiotics (Tokyo)* 22, 283-6, 1969.
- 10) Westerik, J.G., Wolfenden, R. *J. Biol. Chem.* 247, 8195-7, 1972.
- 11) Thompson, R.C. *Biochemistry* 12, 47-51, 1973.
- 12) Dorman, L.C., Cheng, R.C., Marshall, F.N. In *Chemistry and Biology of Peptides*, Meienhofer, J. Ed.; Ann Arbor Sci. Publ. pp.455-9. 1972.
- 13) Bagdy, D., Barabás, É., Gráf, L. *Thromb. Res.* 2, 229-38, 1973.
- 14) Bagdy, D., Barabás, É., Gráf, L., Petersen, T.E., Magnusson, S. *Hirudin. Methods in Enzymology Vol. XLV, Part B.* pp.669-78. 1976. Academic Press, New York.
- 15) Bajusz, S., Barabás, É., Széll, E., Bagdy, D. In *Peptides : Chemistry, Structure and Biology*. Walter, R., Meienhofer, J. Eds. pp.603-608, 1975. Ann Arbor Sci. Publ. Inc. Ann Arbor, MI.
- 16) Bajusz, S., Barabás, É., Tolnay, P., Széll, E., Bagdy, D. *Int. J. Pept. Protein Res.* 12, 217-21, 1978.
- 17) Bagdy, D., Bajusz, S., Rabloczky, Gy. *Drugs of the Future* 10(10) 829-834, 1985.
- 18) Kettner, C., Shaw, E. *Thromb. Res.* 16, 969-73, 1979.
- 19) Bagdy, D., Barabás, É., Diószegi, M., Bajusz, S., Fehér, A. *Thromb. Haemostas.* 50, 53, 1983.
- 20) Bajusz, S., Széll, E., Bagdy, D., Barabás, É., Horváth, Gy., Diószegi, M., Fittler, Zs., Szabó, G., Juhász, A., Tomori, É., Szilágyi, G. *J. Med. Chem.* 33, 1729-35, 1990.
- 21) Bagdy, D., Barabás, É., Bajusz, S., Széll, E. *Thromb. Haemostas.* 67(3), 325-30, 1992.
- 22) Bagdy, D., Barabás, É., Szabó, G., Bajusz, S., Széll, E. *Thromb. Haemostas.* 67(3), 357-65, 1992.
- 23) Bagdy, D., Szabó, G., Barabás, É., Bajusz, S. *Thromb. Haemostas.* 68(2), 125-29, 1992.
- 24) Bagdy, D., Szabó, G., Barabás, É. *Thromb. Res.* 65, Suppl. 1.155, 1992.
- 25) Petersen, T.E., Roberts, H.R., Sottrup-Jensen, L., Magnusson, S., Bagdy, D. *Primary Structure of Hirudin, a Thrombi - Specific Inhibitor. In: Protein and Related Subjects. Vol. 23.* pp.145-49. Pergamon Press, 1976. (Ed. Peeters, H.)

ÚJ ELJÁRÁS A DNS SZINTÉZIS CITOMETRIÁS MÉRÉSÉRE

Az eljárás alapja.

Egy sejt populációt DNS-re specifikus fluorokrommal festve az egyes részecskék DNS tartalma arányos a fluoreszcencia intenzitásával, mely flow citométerrel követhető. Ilyen módszerek általánosan elterjedtek a sejtpopulációnak a sejtcikluson belüli megoszlásának megbecslésére. Hátrányuk, hogy a citometriás analizisekhez a sejtproliferációra utaló S fázis közvetlenül nem, csak a ciklus többi fázisát reprezentáló görbeszakaszok "levonása" után értékelhető. A kis mennyiségű újonnan szintetizált, naszcens DNS vizualizálása az óriási tömegű celluláris DNS detektálása nélkül azzal az előnnyel jár, hogy a DNS replikáció közvetlenül mérhetővé válik, és rendkívül érzékeny módszer birtokába jutunk. A DNS replikációs jelek autoradiográfiával (Hay és Revel 1966; Huberman és mtsai 1973; Fakan és Hancock 1974; Smith et al. 1984; Nakamura és mtsai 1986), ujabban inkább fluoreszcens mikroszkópos felvételekkel különböztethetők meg (Langer és mtsai 1981; Nakamura és mtsai 1986; Hiriyanna és mtsai 1988; Bánfalvi és mtsai 1989, 1990).

A DNS replikáció fluoreszcens mikroszkópos követéséhez alapul bromdeoxyuridin, ujabban inkább biotin-nukleotidok beépülése szolgál. Biotin-nukleotidok alkalmazása lehetővé teszi a replikációs jelek mikroszkópos megkülönböztetését, mely a biotinnak az avidinnel vagy streptavidinnel való kölcsönhatására épül. Az 1. ábra az általunk is alkalmazott biotin-11-dUTP képletét mutatja be. A fluoreszcens módszereket mind az in vivo (Hiriyanna és mtsai 1988), mind az in vitro replikációs rendszerekben (Blow és Watson 1987; Langer és mtsai 1981) alkalmazzák. A permeábilis sejtekben szintetizált biotin-DNS (Hunting és mtsai 1985; Nakayashu és Berezney 1989) detektálhatósága nagy mértékben növelhető immunfluoreszcens amplifikációs eljárás segítségével, mely a DNS-be került biotinra FITC-avidint majd biotin-antiavidint épít, majd ezt a fluoreszcens "szendvicset" növeli a hatékonyabb detektálhatóság érdekében. (Bánfalvi és mtsai 1989). A DNS replikáció sebességének csökkentésével és immunfluoreszcens amplifikációval az Okazaki fragmens méretnél rövidebb DNS szakaszok szintézisével lehetővé

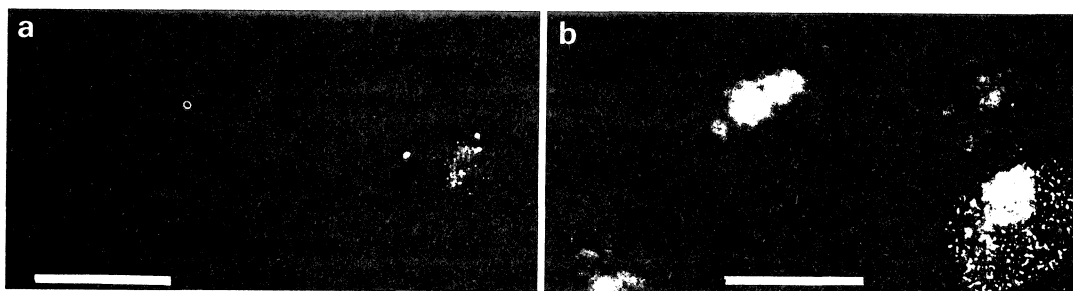
Flow citometriás analízis

Thymocyták DNS-tartalmát, illetve DNS-replikációját vizsgáltuk Beckton-Dickinson (Mountain View, Ca, USA) FACS III cytometer segítségével. Az RNase (1 mg/ml) kezelés (30 perc-37°C) utáni propidium-jodidos (PI) festés (sötétben 20 perc 0°C-on, 50 µg/ml koncentrációval) a minta átlagos DNS-tartalmáról (C-érték) adott felvilágosítást.

A zöld fluoreszcencia (FITC) viszont kizárólag az S fázisban replikálódó magokat jelezte, közvetlenül az immunfluoreszcens amplifikáció után mérve.

Naszccens DNS fluoreszcens megjelenítése

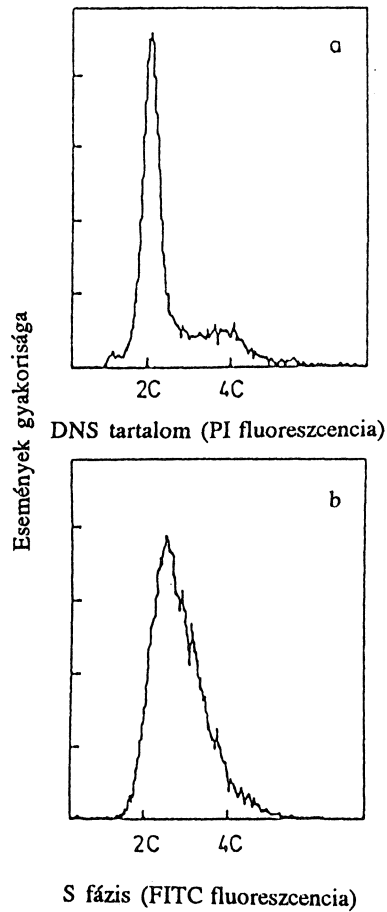
Permeabilis egér-thymocyták és humán melanoma-sejtek újonnan szintetizált DNS-ébe biotin-11-dUTP-t építettünk be, így a magok biotin-jelzetté váltak. Az izolált magokat tárgylemezre szélesztettük, majd fluoreszcens mikroszkópban vizsgáltuk. Végül az amplifikáció révén láthatóvá vált naszcens DNS-t lefényképeztük (2. ábra).



2. ábra. Biotin jelzett DNS fluoreszcens mikroszkópos megjelenítése (a) egér timocita sejtmagban, (b) melanoma sejtmagokban. Skála: 25 µm.

Mikroszkópós mérés felváltása citometriával.

A fluoreszcens jelek mikroszkópos vizsgálata és kiértékelése időigényes és fárasztó feladat, nem beszélve az analízis szubjektív körülményeiről. A sejtmagokat ezért nem tárgylemezen rögzítettük, hanem az immunfluoreszcens amplifikációs eljárást sejtmag szuszpenzióra adaptáltuk a citometriás analizálhatóság érdekében. Ilyen analízist mutatunk be a 3. ábrán. Egér timocitákat izoláltunk (Bánfalvi és mtsai, 1984), biotin-DNS-t szintetizáltunk permeabilis sejtekben, sejtmagot preparáltunk belőle. A fluoreszcens jeleket amplifikáltuk, a DNS tartalomból propidium jodidos festéssel nyertünk flow citometriás profilt (3a ábra), melyen a 2C érték a G₀/G₁ fázisnak, a 4C érték a G₂ fázisnak felel meg. Az S fázisra a 2C és 4C érték közötti görbe



3. ábra. DNS replikáció mérése flow citométerrel. Egér timocitákat izolálunk, permeabilizáltunk és biotin-DNS-t szintetizáltunk és a fluoreszcens jeleket amplifikáltuk. (a) DNS tartalom propidium jodidos festéssel, (b) replikálódó DNS FITC jelei.

szakaszból következtethetünk. C értéken a haploid genom tartalmat értjük. A replikálódó sejtek magjaiban immunfluoreszcens jelzés után a FITC zöld fluoreszcenciája citometriával követve közvetlenül a populáció S fázisu sejteire vonatkozóan ad felvilágosítást, a zavaró celluláris DNS kizárásával (3b. ábra). Kiemeljük e módszer alkalmazhatóságát a sejt-szinkronizálás hatékonyságának a sejtosztódás mértékének, a replikációs gátlószerek hatékonyságának megítéléséhez.

Schweighoffer Edina, Schweighoffer Tamás,
Apáti Agota és Bánfalvi Gáspár
SOTE I.sz. Kémiai-Bikémiai Intézet

I r o d a l o m :

Banfalvi, G., Wiegant, J., Sarkar, N. and Diujn P. van (1989) Immunofluorescent visualization of DNA replication sites within nuclei of Chinese hamster ovary cells. *Histochemistry* 93:81-86.

Banfalvi, G., Tanke, H., Raap, A.K., Slats, J. and Ploeg van der M. (1990) Early replication signals in nuclei of Chinese hamster ovary cells. *Histochemistry* 94:435-440.

Blow, J.J. and Watson J.V. (1987) Nuclei act as independent and integrated units of replication in *Xenopus* cell-free DNA replication system. *EMBO J* 6:1997-2002.

Fakan, S. and Hancock R. (1974) Localization os newly-synthesized DNA in mammalian cell as visualized by high resolution autoradiography. *Exp. Cell Res* 83:95-102.

Hay, E.D. and Revel, J.P. (1966) The fine structure of the DNP component of the nucleus. An electron microscopic study utilizing an autoradiography to localize DNA synthesis. *J. Cell Biol.* 16:29-51.

Hiriyanna, K.T., Varkey, J., Beer, M. and Benbow, R.M. (1988) Electron microscopic visualization of sites of nascent DNA synthesis by streptavidin-gold binding to biotinylated nucleotides incorporated in vivo. *J. Cell Biol.* 107:33-34.

Huberman, J.A, Tsai, A. and Reich, R.A. (1973) DNA replication sites within nuclei of mammalian cells. *Nature* 241:32-36.

Ladanyi, A., Timar, J., Paku, S., Molnar, G. and Lapis, K. (1990) Selection and characterization of human melanoma lines with different liver colonizing capacity. *Int. J. Cancer* 46:456-461.

Langer, P.R., Waldrop, A.A. and Ward, D.C. (1981) Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides: novel nucleic acid affinity probes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:6633-6637.

Nakamura, H., Morita, T. and Sato, C. (1986) Structural organizations of replicon domains during DNA synthetic phase in mammalian nucleus. *Exp. Cell Res* 165:291-297.

Smith, H.C., Puvion, E., Buckholtz, L.A. and Berezney, R. (1984) Spatial distribution of DNA loop attachment and replicational sites in the nuclear matrix. *J. Cell Biol.* 99:1794-1802.

International Symposium on Analysis of Peptides

May 24—26, 1993, Stockholm, Sweden



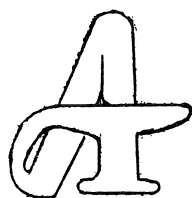
**EUROPEAN FEDERATION FOR
PHARMACEUTICAL SCIENCES**

The European Federation for Pharmaceutical Sciences — with the acronym EUFEPS — was established on September 21st, 1991.

The Federation is a voluntary association of pharmaceutical scientists, established to advance research in the pharmaceutical sciences in Europe. This is to be achieved by promoting cooperation between national, regional and European societies or associations as well as individuals which aim at the advancement of pharmaceutical sciences.

At the time being the Federation comprises societies from 15 European countries (Austria, Croatia, Czechoslovakia, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Italy, Poland, Sweden, The Netherlands, Turkey and United Kingdom).

**38th International Symposium
sponsored by**



**The Swedish Academy
of Pharmaceutical Sciences**

CORRESPONDENCE

Please address all correspondence to:
Swedish Academy of Pharmaceutical Sciences
Symposium on "Analysis of Peptides"
P.O. Box 1136, S-111 81 Stockholm, Sweden
Telephone Int + 46 8 24 50 85
Telefax Int + 46 8 20 55 11

PRELIMINARY PROGRAM with invited speakers

Biotechnological techniques for the production of peptides
William Hancock, San Francisco, CA, USA

SESSION 1: SEPARATION TECHNIQUES

Colin Mant, Edmonton, Alberta, Canada
Milton Hearn, Melbourne, Australia
Krishna Kalghatgi, New Haven, CT, USA
Milos Novotny, Bloomington, IN, USA
Douglas Westerlund, Uppsala, Sweden
Jim Jorgensen, Chapel Hill, NC, USA

SESSION 2: PURITY AND STRUCTURE

Ingrid Maurer-Fogy, Vienna, Austria
Pär Gellerfors, Stockholm, Sweden
Hans Jörnvall, Stockholm, Sweden

POSTERSESSION

DISCUSSION SESSION: Analytical challenges in biotechnology

Chairman: *William Hancock*

Analytical challenges in neuropeptide research
Lars Terenius, Stockholm, Sweden

SESSION 3: IMMUNOLOGICAL TECHNIQUES

G. W. Welling, Groningen, The Netherlands
Jens Rehfeld, Denmark
Richard Lerner, La Jolla, CA, USA
Mats Persson, Stockholm, Sweden
Klavs Berzins, Stockholm, Sweden

SESSION 4: SPECTROSCOPIC TECHNIQUES

K. Wüthrich, Zürich, Switzerland
Peter Roepstorff, Odense, Denmark
Ira Krull, Boston, MA, USA
Tom Blundell, London, UK

SESSION 5: ANALYSIS IN BIOLOGICAL MATERIAL

Elvar Theodorsson, Stockholm, Sweden
Christopher Riley, Lawrence, KS, USA
Carlo Maggi, Firenze, Italy
W. T. Mason, Cambridge, UK

DISCUSSION SESSION: Strategies for the analysis of peptides in biological material

Chairman: *Elvar Theodorsson*

Discovery of neuropeptides — history and future
Viktor Mutt, Stockholm, Sweden

NYÍLT LEVÉL

A FELSŐOKTATÁSI TANREFORM ÜGYÉBEN

Dr. Kiss Ádám
Dékán
Dékáni Titkárság

- Kreatív szakemberek képzése
- A tanszékek alkotó műhelyek
- Oktatás és kutatás ösztönző összhangja

Tisztelt Dékán Úr!

Az egyetemünkön, karunkon folyó tanreform ügyében írok Önnek. Szíves engedelmével elküldöm levelem másolatait egyetemünk rektorának, és azoknak a kollegáimnak, barátaimnak is, akikkel az alábbiakban felvetett kérdéseket megvitattam. Elgondolásaim végülis ezeknek a beszélgetéseknek a során formálódtak. Örömmel venném továbbá, ha Dékán Úr hozzájárulna levelemnek az ELTE TÁJÉKOZTATÓ szeptemberi számában való közléséhez.

Dékán Úrnak a kari oktatási reformmal kapcsolatos koncepcióját, melyet a "Reform, tanszabadság, autonómia" című cikkében (Magyar Nemzet, 1991 október 1) kifejtett, fenntartás nélkül elfogadom. Észrevételeim és javaslataim ezért csak a reformfolyamat menetére, technikai mikéntjére szorítkoznak.

A tanreform demokratikus játékszabályok szerint, alulról felfelé, a tanszéki szintről a kari vezetés felé irányulva bontakozik ki. Jelen viszonyaink közt ennek a gyakorlatnak ugyan nincs reális alternatívája, a mechanizmus nehézsége és hibái egyre nyilvánvalóbbá válnak. A probléma országos méretű: a demokratizmus csak demokratikusan szerveződött közegben működhet adekvát módon. A tanszékek oktatói/kutatói létszámát, minőségi összetételét és kapcsolatrendszerét, a csoportszerkezetet még nem érinthette meg a reform szele. Így, miközben a hajóból kiszórunk jónéhány tárgyat, újakat emelünk be, átfestjük a berendezést, netán növeljük a vitorla méretét, az előregedett, vagy az elmúlt évtizedek során hanyagul ácsolt bordázat egyelőre marad. Belátom mindamelllett, hogy a reform sodrában, elsiertett nagyjavítással nem kockáztathatjuk a hajózás biztonságát. Amit remélhetünk, az az, hogy a feltámadt demokratikus szellő, s ennek nyomán egy új oktatási stílus, a reform második nagy hullámverésében elodázhatatlanná teszi majd a szerkezet átépítését is.

A kari szintű oktatási reform jelenlegi stádiumában a legsürgetőbb teendőnek azt tartom, hogy az egyes tanszékeken kidolgozott reformtervek között összhangot teremtsünk. Egységes elvek és szabályzók nélkül ugyanis nem valósítható meg előremutató, felsőoktatásunk globális korszerűsítését szolgáló reform. Ez az a feladat, amely aligha oldható meg a javasolt valamennyi megoldás maradéktalan figyelembevételével. Ahhoz, hogy az egyes hajók szabadon, de mégis flottába tömörülve, határozott cél felé vitorlázzanak, parancsnoki koncepcióra és iránymutatásra van szükség. Tudom, hogy Dékán Úr érzi ennek a feladatnak a súlyát, s munkatársaival dolgozik a megoldáson. Ehhez a munkához kívánok képességeimhez mérten, igaz segítő szándékkal hozzájárulni. Mielőtt konkrét javaslataimat megteszem, szeretném három pontban megfogalmazni azokat a - megítélésem szerint - legfőbb célkitűzéseket, melyek elérése reformok nélkül elképzelhetetlen:

I. A jövő magyar egyetemének nem szürke átlagot, "betanított értelmiséget", hanem a hallgatói tábor (képességek tekintetében) felsőközépső rétegét és elitjét megcélozva, szuverén gondolkodású, kreatív szakembereket kell képeznie.

II. A fenti cél szolgálatában olyan reformot kell megvalósítanunk, amelynek eredményeképpen a tanszékek és azok együttese nem mechanikus oktatói gépezetként, hanem alkotó műhelyekként fognak működni.

III. A reform csak akkor érheti el célját, ha a tanszékek oktatói munkája nem hátráltatni, hanem stimulálni fogja a tanszékek tudományos tevékenységét, és *vica versa*, a tanszéki kutatások nem veszélyeztetni, hanem javítani fogják az oktatás minőségét.

A kérdés az, hogy milyen, a Kar (az Egyetem) egészére kiterjedő reform lendíthet bennünket a kitűzött célok elérése irányába. Javaslataim a következők.

A tanszékek által meghirdetett programoknak (nem tesztek különbséget az elméleti előadások és az ezekhez csatlakozó gyakorlati képzés közt) három alaptípusa legyen:

1. **Alapozó kurzusok.** Ezek funkciója a szakterület (kémia, fizika, biológia, stb.) műveléséhez minimálisan, de elengedhetetlenül szükséges alapismeretek tanítása, és a jelenleginél lényegesen szigorúbb számonkérése. Az alapozó kurzusok a radikális minőségi szelekció eszközei lennének. A szűrőhatás fokától függően az induló hallgatói létszám a jelenlegi két-háromszorosát is elérheti, miközben a magiszteri szintet teljesítő (diplomát szerző) hallgatók száma - a piaci igényektől függően - csak a kívánt mértékben növekedne, vagy éppen csökkenne.

A szakonként és szakkombinációnként előírt kötelező alapkursusokat szigorúan kötött tanrend helyett ajánlások alapján, vagy akár tetszés szerinti sorrendben végezhetnék el a hallgatók. A jelenlegi kötöttségek feloldását csak az tenné lehetővé, ha az egyes alapozó programok időtartamát egy szemeszterre korlátoznánk, s azok tanévenként kétszer, tehát minden egyes szemeszterben kirásra kerülnének. A tanrendet színesebbé tenné, a hallgatók választási szabadságát növelné, az oktatók terhelését pedig csökkentené, ha az alapképzésben résztvevő tanszékek alapozó programjait szemeszterenként más és más oktató neve fémjelzné. Az ismétlődő programok tematikájának és a számonkérés módszerének egységességét a tanszékeknek kell garantálniuk.

Kialakulóban lévő kétlépcsős oktatási rendszerünkön belül az alapozó kurzusok szakonként és szakkombinációnként meghatározott rendszere alkotná az alapképzés gerincét. Elgondolásom szerint azonban a kötelező alapozó kurzusok együttese nem töltheti ki az alapképzésre szánt időt. Ha a tanszabadság elvét következetesen érvényesíteni kívánjuk, olyan képzési rendszert kell kidolgoznunk, amely már a három (vagy esetleg négy) évre tervezett alapképzési perióduson belül is megajándékozza a diákságot azzal a lehetőséggel, hogy megtegye az első (talán kezdetben tétova) lépést a specializálódás irányába. Ennek a kellőképpen még fel nem ismert igénynek a kielégítését szolgálják a tetszés szerint választható haladó kurzusok, melyek az alapozó stúdiumok anyagára épülnének.

Az alapképzés szerkezetére vonatkozó javaslatom lényege tehát az, hogy a hallgatók az alapismeretek elsajátítását követően már ebben a tanulmányi fázisban is eljuthassanak az egyes általuk preferált diszciplínák haladó szintű elsajátításáig. Kényes kérdés az alapszinten belül megkövetelt alapozó és szabadon választható haladó kurzusok időarányának meghatározása. Az alapozó kurzusok saját becslésem és külföldi példák alapján ideálisnak tűnő 70 %-os részaránya a jelenleg kötelező tananyag volumenének drasztikus csökkentését vonná maga után. Ez az egyes tanszékek részéről nagy önmegtartóztatást feltételezne, s annak belátását, hogy egy kurzus fontossága és színvonala nem az előadott ismeretanyag mennyiségével arányos. Sokkalta inkább azzal az érdeklődéssel, melyet az kívált, s mely a hallgatókat a tárgy haladó szinten történő továbbtanulására készíti.

2. **Haladó kurzusok.** Haladó kurzust minden olyan tanszék meghirdethet, amely az alapozó képzésben is résztvesz. A programoknak - a diszciplína jellegétől függően - az alapozó stúdiumokon tanított ismeretek elmélyítését, magasabb szinten történő kifejtését, részletezését, ill. a szakterület mindenkor legfrissebb tudományos eredményeinek bemutatását kell szolgálniuk. Az alapozó kurzusok időbeosztásához hasonlóan a haladó programok is egy szemeszter időtartamúak lennének, és minden szemeszterben lehetőséget kellene biztosítani felvételükre. Az alapozó és az ahhoz

csatlakozó haladó kurzusokat tehát az egyes tanszékek párhuzamosan és szemeszterenkénti periodicitással folyamatosan tartanak meg, ezzel lehetővé téve, hogy a diákok többé kevésbé egyénileg összeállított tanterv szerint végezzék tanulmányaikat.

3. Speciális kurzusok. A jelenlegi speciális kollégiumoknak megfelelő stúdiumok, melyek azonban a már összegyűjtött szinten is bevezetés alatt álló kétlépcsős alap és magiszteri képzési rendszer struktúrájában a jelenleginél lényegesen nagyobb súlyt kapnának. Nem utolsó sorban annak köszönhetően, hogy az alapképzés fentiekben javasolt racionalizálása következtében a tanszéki oktatói kapacitás jelentős része felszabadulna, és az igényes speciális képzés szolgálatába lenne állítható. Értelmeszerűen, ezeknek a programoknak a szellemi töltését és színvonalát a tanszéki kutatási hagyományok és az aktuális kutatási profil garantálnák. Ekképpen a magiszteri fázisban felvehető kurzusok a posztgraduális (diplomaszerzést követő) képzés nyitányát jelentenék, természetes átvezetést arra a képzési szintre, melynek kiépítésén fáradozunk.

Összefoglalva, a fentiekben ajánlott szisztéma a különböző szintű modulokból felfelé építkező, többféleképpen átjárható, a meghatározó nyugat-európai és amerikai rendszerekkel is kompatibilis oktatási szerkezet és stílus kialakítását tenné lehetővé. Híven szolgálná azokat a célkitűzéseket, melyeket levelem elején az I.-III. pontokban foglaltam össze. Vertikális kifejtésben és perspektívában a rendszer előnye a következők:

A. Egyszerűsítene, esetleg feleslegessé tenné a bonyolult tantervi egyeztetések gyakorlatát, a tantervi háló felettebb szövevényes rendszerének kidolgozását.

B. A jelenlegi formájában elaprózott, a teljes oktatói gárdát lekötő alapképzés javasolt egységesítése és egyszerűsítése szellemi kapacitást szabadítana fel. Ez a kutatói munka és ezzel szoros összefüggésben a speciális stúdiumok színvonalát növelné, végsősoron a posztgraduális tevékenység kibontakozása felé nyitna kaput.

C. A struktúra egésze, kivált a diákság fokozatosan érvényesülő választási kényszere a választék bővülésével egyetemben a jelenleginél kritikusabb és kreatívabb hallgatói mentalitás irányába hatna.

D. A hallgató szabad választása úgy a haladó, mint a speciális kurzusok tekintetében az egyes tanszékek közt versenyhelyzetet teremtene. Végülis ennek érvényesülése nélkül az évezred fordulóján aligha képzelhető el hatékony, a tanszék (tanszékcsoporthoz) szerkezetére is visszaható, azt a kor követelményeinek megfelelően folyamatosan formáló, flexibilis felsőoktatási rendszer.

Levelemet annak reményében zárom, hogy Dékán Úr kiérzi belőle az egyetemünk rangjéért és jövőjéért aggódó, kutatói és tanári hivatása közt éles határvonal megvonására mindígis képtelen munkatárs jószándékát.

Budapest, 1992 június 20.-án

Dr. Gráf László
egyetemi tanár

**EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM
BIOKÉMIAI TANSZÉK**

A HAZAI BIOTECHNOLÓGIAI IPAR NÉHÁNY JELLEMZŐ VONÁSA⁺

A magyar biotechnológiai K+F program eredményeiről részletes és összefoglaló, értékelő beszámolót olvashatunk a Magyar Tudományban (1). Úgy gondolom, a VIII.Fermentációs kollokvium minden résztvevőjének hasznos és tanulságos lehet ennek a tanulmánynak az ismerete. Azt hiszem, egyetérthetünk a hazai biotechnológiai program Műszaki-Gazdasági Tanácsa elnökének és programmegbízottjának véleményével : „...a kutatás bizalmi légkört igényel, amelynek kölcsönösen kell megnyilvánulnia a kutató és a programot koordináló ún.tudományszervező és a munkát finanszírozó között. Hinni kell a felvetett (kitűzött) kutatási feladat elvégezhetőségében, a koordináló közreműködésének érzékenységében és segítő készségében, valamint az ezekhez szükséges erőforrások előteremtethetőségében.” A hazai biotechnológiai helyzetképet én egyfelől néhány ipari eredménnyel igyekszem kiegészíteni, másfelől pedig, előre tekintve, a fejlődés szempontjából egy lényeges technológiai tényezőre, a léptékhatásra kívánom felhívni a figyelmet.

Jelentős hazai biotechnológiai ipari eredménynek tekintetjük - véleményem szerint - azt, hogy Európában először hazánkban alkalmaztak ipari méretben immobilizált enzimet - az invertcukor gyártásában. A Budafoki Szeszgyárban folytonos erjesztési technológiát vezettek be. Nagy kapacitású (évi 5000-7000 t) , modern lizin üzem épült fel és termel, kielégítve a hazai igényeket. (2). Gyógyszergyáraink jelentős erőfeszítéseket tettek biotechnológiai tevékenységük korszerűsítésére mind az infrastruktúra javítása, mind a szakemberek képzése terén. A hazai biotechnológia jövője szempontjából fontosnak tekinthető a Mezőgazdasági Biotechnológiai Központ felépítése Gödöllőn és a kutatómunka megindulása (3). Mindezzel szoros összefüggésben biotechnológiai oktatási programok indultak az egyetemeken graduális (Budapesti Műszaki Egyetem, Kossuth Lajos Tudományegyetem, József Attila Tudományegyetem, Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Gödöllői Agrártudományi Egyetem) és postgraduális szinten (Budapesti Műszaki Egyetem, Gödöllői ATE).

⁺A VIII.Fermentációs Kollokviumon (Hajdúszoboszló) elhangzott előadás alapján.

Biológiai bankok jöttek létre és az Országos Műszaki Fejlesztési Bizottság jól működő információs hálózatot valósított meg.

A hazai biotechnológiai kisvállalkozások közül a Biotechnika Rt-t (a Szegedi Biológiai Központ mellett) 70 Mft-os alaptőkével hozták létre; ez a vállalkozás azonban nem bizonyult életképesnek. Az EGIS Gyógyszergyáron belül 160 Mft alaptőkével kezdte meg működését a TRIGON Kft, amelynek 80 alkalmazottja van. A human alfa-interferon mellett vírus-diagnosztikumokat gyártanak. 1991-ben 44 Mft-ot forgalmaztak. A 15 Mft alaptőkével létesített DIAGNOSZTIKUM Kft mint magánvállalkozás 1991-ben 50 Mft értékű human diagnosztikumot gyártott.

A hazai fermentációs gyógyszeripar mai helyzetének felmérésekor nem hagyhatjuk figyelmen kívül azt, hogy a Chinoín, amely bölcsője volt a hazai penicillin-gyártásnak, ennek az évnek a végén megszünteti fermentációs tevékenységét. Tudomásunk szerint a Phylaxia fermentációs részlege is az életben maradásért küzd. Ezek a tények arra utalnak, hogy a régi gazdasági környezetben viszonylag jól properáló gyógyszeripari fermentációs üzemek a mai versenyhelyzetben már komoly nehézségekkel küzdenek. Két kérdés merül fel és vár választ: (1) mi ennek az oka és (2) mit lehet tenni? Az első kérdésre adandó egyik lehetséges választ alátámasztja az alábbi táblázat:

Üzem	A magyar fermentációs üzemek nagysága és fermentorparkjának jellemzői	
	Bruttó kapacitás m ³	Modern kapacitás ⁺ m ³ %
Biogal	804	564 70
Chinoín	600	300 50
Phylaxia	550	260 47
Richter	328	190 58
Agroferm	960	960 100
Összesen :	3242	2274 70

⁺Modern kapacitáson műszerezett fermentort értünk

Nyugati vállalatoknál ritkán ritkán találunk 500 m³-nél kisebb fermentációs kapacitású és 100 M USD/év alatti termelési értéket

produkáló üzemet. Úgy tűnik, hogy ez az a kritikus méret, amely alatt már nehéz gazdaságosan termelni. A nyugati üzemek nemcsak nagy fermentációs kapacitással, hanem nagy térfogatú és műszerezett fermentorparkkal is rendelkeznek. A HOECHST cég frankfurti üzemében pl. 24, számítógéphez kapcsolt, 150 m^3 -es fermentor van (a bruttó fermentációs térfogat 3600 m^3). Ezzel szemben a teljes gyógyszeripari fermentációs kapacitásunk 2282 m^3 , ebből 1314 m^3 (57 %) műszerezett modern fermentor és 1180 m^3 a nagy térfogatú, műszerezett, részben számítógéppel irányított fermentor. Ezek a tényadatok világosan mutatják : viszonylag kis kapacitású üzemekkel rendelkezünk, a berendezések zöme korszerűtlen, nem műszerezett és kis kapacitású . Nyilvánvaló : ezekben az üzemekben - a léptéktörvény értelmében - nem lehet megfelelő produktivitású, hasznot hajtó termelést folytatni. Ugyanis a léptéktörvény szerint minél nagyobb a termelt mennyiség, annál alacsonyabb a termelt anyag önköltsége és ezzel összefüggésben - az ára. Mindaddig, amíg nem tudunk a fenti körülményeken változtatni, nem remélhetjük, hogy nemzetközi téren versenyben maradhatunk. A fenti követelményeknek hazánkban ma lényegében csak a BIOGAL Gyógyszergyár felel meg.

NYESTE LÁSZLÓ

H i v a t k o z á s o k

- (1) Holló János és Kralovánszky U.Pál : Magyar sikerek a biotechnológiai kutatásban. A magyar K+F program eredményei. Magyar Tudomány (1992) 3, 268-82.
- (2) Gál Ferenc és Balogh István : Lizin előállítás ipari méretben. BIOKÉMIA (1992) 16(2), 75-80.
- (3) Barabás Zoltán : The Mission of Biotechnology in the ABC. BIOKÉMIA (1991) 15(1), 43.

BIOLOGICAL FUNDAMENTALS IMPORTANT FOR A FUTURE EUROPEAN BIOTECHNOLOGY

During a meeting which was held in Brussels in April 1992, representatives of the European Federation of Biotechnology (EFB) and the staff of the Département Générale XII of the European Commission discussed the Biological Fundamentals that are important for the future European biotechnology. This article summarizes the introductory lecture which reflects the position of the European Federation. To collect information in the field of Biological Fundamentals, a letter had been sent to EFB members containing the following questions :

- (A) What are the scientific bottlenecks in the field of Biological Fundamentals which limit the development in biotechnology ?
- (B) Which research areas in basic biology should be supported by future EC-programmes ?
- (C) Are there bottlenecks, other than scientific ones, which hinder the progress in biotechnology ?

Nearly 30 EFB members from 10 different countries working in basic biology, in biochemistry and also in chemical engineering gave their advice. The people responding were employed at Universities, Research Institutes and in industrial companies, thus ensuring that the information collected could be considered as accurate assessment of those areas requiring intensive research in biotechnology.

Scientific bottlenecks hindering development in biotechnology

In this section, the scientific bottlenecks hindering development in biotechnology will be discussed separately for macromolecules, microorganisms, plants and animals.

Macromolecules of cellular origin play, without doubt, an important role in biotechnology. Chromosomes, proteins and other biopolymers can be considered to represent subclasses of macromolecules of immense biotechnological importance.

Concerning chromosomes, their overall architecture is a demanding future project. In particular, the structure of the eukaryotic chromosome during different phases of the cell cycle has to be elucidated. Another field which deserves much attention is that of DNA-sequencing. Sequencing procedures are still too slow to allow the genomic sequence of industrially im-

portant organisms to be determined in a reasonable time. One of the biggest tasks thereafter, is the identification of biological functions of nucleotide sequences. If no sequence homologies are found in data banks, the functional analysis requires much experimental work.

Protein engineering is considered to represent an important field in future biotechnology. A prerequisite for this technique is the existence of the 3-dimensional structure of the protein investigated. Therefore, the 3-dimensional structure determination of protein has to be improved. Another problem is the structure predictability of proteins based on amino acid sequences. If the 3-dimensional structure of related proteins are known, computerized protein modelling can help to develop model structures. If there is no information at all, efforts are necessary to analyse the process of protein folding in order to collect information about the formation of the 3-dimensional protein structure in vivo. It should be mentioned that to date, it is not clear whether a reasonable 3-dimensional structure of proteins is also necessary to study protein-protein and protein-ligand interactions. The next level of complexity deals with protein clusters which which can even contain RNA. The architecture of these clusters and also their dynamic behaviour is of importance for their application of this tools in biotechnology.

In the polymer field, the structure, function and dynamics of membranes still requires a great deal of attention, although recent results in membrane biology are really spectacular. Another polymer which should be analyzed to a larger extent is the polysaccharide. The biosynthesis, structure and functions of polysaccharides are only poorly understood. On the other hand, these compounds play an important role in cell-cell recognition and will therefore gain more and more importance for biotechnology.

Microorganisms play the most important role in present-day biotechnology. Since most of them can be modified by genetic engineering techniques, it is expected that they will not lose their leading position in the field. In order to make use of all their potentialities it is necessary to analyze the genomes of industrially important microorganisms at the nucleotide level. Although genetic engineering is already developed to a high degree, improvement of gene transfer techniques, in particular, for lower eukaryotes, e.g. for filamentous fungi, is one of the future tasks.

Besides genetics, microbial physiology was considered to represent an important future research field. Today, it is no problem to identify genes involved in specific metabolic pathways and also to analyze their function by biochemical means. Now, it becomes more and more necessary to determine the fluxes which are pumped through these specific metabolic pathways. In the light of biotechnology, these fluxes have to be optimized in order to produce specific cellular compounds.

Although much experimental work is still necessary in order to understand classical microorganisms used in biotechnology, there is already a big demand for new microorganisms which can be used as a source of macromolecules having new properties. Extremophiles for e.g. transpired to contain many interesting heat-stable proteins. In addition, it should be taken into account that to date we are able to culture only 5-10 % of all microorganisms found in nature. Therefore, methods should be developed to handle viable but non-culturable microorganisms. Such methods should include techniques to analyze single cells in a complex environment.

Plants are gaining increasing importance in biotechnology, since it is already possible to genetically modify agricultural species. Bottlenecks in plant science result from the limited knowledge of the biosynthetic pathways involved in the production of primary and secondary metabolites. Another limitation is connected to gene transfer techniques. For monocots for e.g. a powerful transformation procedure is still missing. In addition, the regeneration of adult plants from single cells is technically possible for only some model plants. For many agriculturally important plants the regeneration procedure has still to be developed.

Gene regulation in plants is also an interesting field which should get more attention in future. By using reporter gene constructions, the regulation of specific promoters can be studied. How limited our knowledge really is, was demonstrated by the use of the gene amplification technique which very often resulted in an opposite effect, namely in a reduction of the expression of the amplified gene. The next challenge in plant science is the differentiation process which perhaps is also tightly connected with regulated gene expression. The response to environmental stresses seems to play an important role in agriculture. Again, it is of interest to understand this stress response on the molecular level. This would automatically enable plant growth to be optimized under extreme environmental conditions, such as enhanced temperature, severe drought and high salt concentrations.

Of interest is also to analyze the plant with respect to its interaction with the environment, in particular, with symbiotic and pathogenic microorganisms. Information on cell-cell recognition is not available in this field. Furthermore, the signal transfer between the interacting partners should be analyzed in more detail.

Animals can also be expected to play a more important role in biotechnology. As is the case for microorganisms and plants, the metabolic pathways in animal cells need more attention. Additionally, the gene transfer and generation of transgenic animals cannot be classified as single laboratory techniques. Concerning gene regulation and differentiation, transgenic animals are extremely helpful in elucidating these processes. In addition to the points mentioned, animal science has still two further important aspects which are of value to biotechnology. One aspect deals with the cellular and the molecular level of immu-

nology. These investigations have proved it possible for e.g. to receive genes for antibody production in microorganisms. The other aspect is that of cellular and molecular neurobiology. It is often discussed that the deciphering of the brain structure will influence even computer science.

Last but not least, the introduction of animal cells with microorganisms should also be studied. This is clearly necessary for medical reasons. However, future research should also help explain the field of cell-cell recognition and signal transfer between the pathogenic microorganism and the animal cell.

Biological fundamentals which need support in future European Community programmes

From the previous section, it becomes evident that there is a long list of interesting biological problems which when solved, would accelerate the development of biotechnology. The following section lists specific biological fundamentals which deserve to be incorporated into future European Community programmes. It should be mentioned that this collection is not complete but it contains all those proposals which were repeatedly mentioned in the letters received.

Concerning

Macromolecules, automation and robotization of the DNA-sequencing techniques were considered to need further support. Also the continuous development of the computerized handling of nucleic acid sequences should be part of future research programmes. In the field of 3-dimensional protein structures, new methods are necessary to facilitate the structural analysis. NMR-spectroscopy seems to be an interesting method since it allows the structure of proteins in solution to be analyzed. Of course, protein modelling and protein engineering to construct enzymes at will, are still considered to have top priorities. More attention should be paid to the development of a cell-free protein biosynthesis. Using the PCR technique and a coupled transcription-translation system, it should be possible to produce recombinant proteins - entirely without transforming a living cell. This, of course, would circumvent all the problems with recombinant organisms.

For Microorganisms, the study of global regulatory functions belongs to those research topics that require urgent attention. As an example gene regulation in facultative microorganisms under microaerobic conditions should be analyzed. It is of specific interest to find out how the oxygen tension is measured by a molecular sensor. Progress in this field can only be achieved by combining genetics, biochemistry and physiology. Microbial physiology on the other hand,

is still considered to require more support. In particular, the optimization of carbon fluxes for the synthesis of heterologous proteins and secondary metabolites should be carried out by genetic engineering. New methods should also be developed to study the microbial metabolism on the cellular level. The introduction of a micro-NMR technology seems to solve many of the existing problems. Last but not least, the secretion of heterologous proteins in microorganisms is still an important research field which has an enormous impact in biotechnology.

In the Plant field, the development of more sophisticated cloning techniques should be planned, for e.g. the development of artificial plant chromosomes similar to yeast artificial chromosomes is an interesting project. Additionally, by the use of genetic engineering techniques, energy and carbon fluxes should be directed towards defined sinks, for e.g. into sinks connected with seed or tuber production. This field which is termed molecular physiology, should be analyzed to a greater extent. There is much hope that in future, transgenic plants can be used for the production of heterologous proteins. If such proteins are stored in seeds or tubers the concept of protein farming would become very attractive. In this case, the chemical bioreactor is completely replaced by the individual transgenic plant. Another aspect of plant biotechnology in the development of molecular concepts is to increase plant defense against pathogenic infections. The improvement of symbiotic interactions to enhance plant productivity should also be included into a future program.

Animal biotechnology is a growing field and the cloning techniques are in their infancy. It would be of an immense progress to insert a foreign gene at a defined site. Therefore, research should be initiated to analyse this problem. It transpired that the production of heterologous proteins in animal cell cultures play an important role, since these proteins are correctly glycosylated. However, the entire production process in animal cell cultures, is still very ineffective. The limitations of the production process should be explored. Recently, an interesting alternative of the production of heterologous proteins by transgenic animals was developed. This alternative makes use of lactation, during which, under natural conditions, an extremely rich protein solution is produced. This alternative deserves future attention since it would guarantee that high-value proteins could be produced by an extremely inexpensive process. Analogous to the plant microbe interaction, molecular concepts to avoid microbial infections should also be analyzed. There is much demand for the ability to control specific infections by lower eukaryotes.

Bottlenecks other than scientific, that hinder development in biotechnology

The prospects of future biotechnology are without doubt, tremendous. The question, however, as to whether there will be a broad application, depends on public perception. It seems that pharmaceutical products made by genetic engineering will be accepted without much hesitation. On the other hand, Recombinant DNA products introduced into the food sector, termed "food from the gene kitchen", are still opposed by the public. In this connection, it is really necessary to inform the public on a broad scale about modern biotechnology and, in particular, about the safe production of pharmaceuticals and food by recombinant organisms. The most important bottleneck at the moment is the unfavourable legislation for contained use and deliberate release. This is not only the case with the legislation in Germany, but also with the coordinated European gene law developed by the EC. If this unfavourable legislation is not changed in the future, the biotechnology-based industry will leave Europe and establish production plants in the U.S. or Japan, where the legal conditions are much more realistic and better adapted to industrial production. Besides these legal aspects, there are still bottlenecks in the discipline of biotechnology itself. Very often the absence of effective dialogue between the various scientific fields constitutes impediments to an optimal development in biotechnology. In addition, the biotechnological education at universities has to be enlarged in order to produce scientists who are well qualified to develop the future European biotechnology. Last but not least, the future development in biotechnology also depends on the financial support of present research projects. Compared to other disciplines, biotechnology with its broad spectrum of applications seems not to be founded sufficiently.

To summarize : The purpose of this article is to point out the bottlenecks in basic biology which hinder the future development in biotechnology. The opinions presented were collected from persons actively engaged in the European Federation of Biotechnology. The aim of the article is to define problems in the research field of Biological Fundamentals which should be addressed by future EC programs and solved by a collaborative European effort.

A. PÜHLER

Genetikalai tanszék, Universitat
Bielefeld, FRG

Napjaink lapjainkban

A NEM TUDOMÁNYOS
FÓRUMOKON VALÓ KÖZLÉS

MAGYAR TUDOMÁNY 1992/3.

Természetesen minden jelentős tudományos eredményről a széles közvéleményt is tájékoztatni kell. Ennek a tájékoztatásnak azonban hitelesnek és mértéktartónak kell lennie. Elsődleges közlés pedig megengedhetetlen a nem tudományos fórumokon. A sajtóértekezletre csak akkor kerülhet sor, ha a felfedezést tudományos

folyóiratban már közölték, sőt, igazán jelentős eredmények esetében célszerű az eredmények független megerősítését is megvárni.

A prioritás megőrzése nem lehet ok a médiában való közlésre, a felfedezés időpontját a folyóirathoz való beérkezés jelenti. A gyakorlati jelentőségű felfedezések esetében pedig az illetékes hatósághoz – Magyarországon az Országos Találmányi Hivatal való bejelentés pontos ideje számít. (Van arra példa, hogy a szabadalmi oltalom megszerzése órákon múlt.)

BECK MIHÁLY : A tudományos kutatás és közlés etikai kérdései.

SCIENCE

1 NOVEMBER 1991
VOLUME 254
NUMBER 5032

Credibility in Science and the Press

A recent lead story in *Time* entitled "Crisis in the Labs" characterizes the American researcher as under siege because of recent cases of fraud, misconduct, and error by scientists. While accepting responsibility for such aberrations, the scientific community has a right to ask whether recent examples of plagiarism, fabrication, and unethical conduct in the press demand an analogous article entitled "Crisis in Journalism." The parallelism between the problems and responsibilities of each community suggests that a set of procedures in both science and journalism could benefit the credibility and accountability of both professions.

A community that depends for its success on the responsibility of many individuals has difficulty in being collectively accountable for the misdeeds of some of its members. No one suggests that *Time* or the *New York Times* should be ashamed of themselves because of stories published in the *National Enquirer* or because pornographic magazines are available in every hamlet in America. Individuals and institutions are made accountable in journalism and in science by taking seriously those who are consistently accurate and reliable and ignoring or decrying those who are consistently sensationalized and inaccurate. Pressure is increasing to create an overarching authority in science that could prevent the occasional mountebank or misguided institution from having a brief moment of notoriety. Freedom of the press and freedom of scientific inquiry are similar in the sense that an overarching directorate would kill the enterprise, but each profession is accountable in the establishment of procedures that responsible journalists and responsible scientists are expected to maintain.

Once the similarity of accountability in the two professions is recognized, they can help each other to be of greater service to society. There are many examples these days of improper conduct, of which the recent coverage of the chemical Alar, used to slow the ripening of apples, is a dramatic example. In that case, a clearly dubious report about possible carcinogenicity by a special interest group was hyped by a news organization without the most simple checks on its reliability or documentation. This caused panic among consumers and losses of millions of dollars by apple growers. Confronted with the inadequacy of the data, a spokesman for the public interest group recently suggested that it was excusable because people are eating more apples than ever before. That is like an embezzler justifying embezzlement by saying the banking industry continues to survive. Worse, the public's disdain for repeated scares indicates that an individual publication's (or broadcast group's) willingness to cry "wolf" uncritically may be destroying the press's own credibility and its ability to provide legitimacy to responsible environmentalists. The *Time* article acknowledges this by pointing out that the press has been too willing to publicize Jeremy Rifkin's cries of alarm, which so far have been consistently wrong.

The press cannot be expected to have in-house scientists for every occasion, but can be expected to establish procedures to improve its own credibility. "Scientific" reports vary from articles in refereed journals to statements released at dataless press conferences. The credibility of scientists varies from those with records of objectivity to others who only travel from press conference to press conference and law court to law court saying what their clients want to hear. The ultimate decider in all controversial matters must be the data in a well-run experiment, but the press and science can catalyze a mutual accountability if the press would routinely reveal the journal in which the information is to be or was published and disclose the track record of the scientists or the group of scientists (for example, the National Academy of Sciences, Exxon, or the Natural Resources Defense Council) that are quoted. In a democracy the right of an industry to state that its compound is safe and the right of a public interest group to cry out with alarm cannot and should not be suppressed, but a press that equates a peer-reviewed experiment with a public relations document should expect the public to equate *Time* with the *National Enquirer*. So a policy of routinely revealing sources and records would improve the credibility of the press and expose those scientists who fail to maintain standards of objectivity.

The scientific community, like the press, must be willing to develop rules and procedures to maximize accountability, an example of which would be a mutual agreement that press conferences without peer-reviewed data should be greeted with heavy skepticism. In that way both the press and science can be credible without stifling either the freedom of the press or the freedom of scientific inquiry.—DANIEL E. KOSHLAND, JR.

A Széchenyi díjas trombingátló

Dr. Bagdy Dániel évtizedek óta foglalkozik a hemosztázist befolyásoló anyagok, potenciális gyógyszerjelöltek kutatásával. Írigylésre méltó frissességgel - szellemi és fizikai értelemben egyaránt, fiatalokat megszügyenítő lelkesedéssel és ügybuzgalommal teszi ezt ma, 70 évesen és tette egész aktív kutatói pályafutása során. Sokszor dacolnia kellett a munkáját időnként körülvevő meg nem értéssel és a támogatás hiányával, de ő soha nem adta fel. Igen szívósan harcolt, ha kedves vegyületeit bármilyen veszély fenyegete - rosszul tervezett, kivitelezett kísérlet, vagy a támogatás átmeneti leállítása, esetleg rossz szakmai helyzetfelismerés képében. Ez a személyiség áll a GYKI-14 766 specifikus trombingátló sikertörténete mögött, melyért őt és Dr. Bajusz Sándort 1992-ben Széchenyi díjjal jutalmazták.

Dr. Bajusz az ötletek embere: ránéz egy fehérje vagy polipeptid szerkezetére, kicsit elgondolkodik, és fejében már meg is született egy új analóg, agonista vagy antagonist, melyet általában hamarosan a valóságban is elkészít. Valószínűleg így fogant meg 1974-ben a GYKI-14 166, melyet a trombin természetes szubsztrátjának a fibrinogénnek a szerkezetéből lehet deriválni. A GYKI-14 166-ot egy peptidsorozat első néhány tagja között szintetizálta meg Dr. Bajusz Sándor, s hamarosan kiderült, hogy kiváló antikoaguláns és antitrombotikum. Hatásmechanizmusa egyértelmű: a D-Phe-Pro-Arg-H szekvencia specifikusan kapcsolódik a trombin aktív centrumához és az aldehid csoport az aktív szerinrel lép reakcióba, lassú hidrolízisre képes inaktív komplex képződése közben.

Amit nem lehet megjósolni, de gyógyszerfejlesztési szempontból természetesen igen fontos tulajdonság: az *in vivo* is jelentkező jó hatékonyság volt, a mellékhatások pedig jelentékteleneknek bizonyultak.

Kémiai instabilitása miatt mégsem válhatott gyógyszerré a GYKI-14 166. Am inaktiválódási mechanizmusának alapos megértése segített. Kiderült, hogy az inaktiválódási folyamat a szabad -NH₂ csoport katalízise mellett megy végbe. Ennek alapján "egyszerű" volt továbblépni: az N-metil analóg, a GYKI-14 766 már tényleg stabil volt, s az anyavegyület összes jó tulajdonságával is rendelkezett (1,2).

Az invenciózus kémiai munkát a különféle *i n v i t r o* és *i n v i v o* modellek sokaságának beállítása és a GYKI-14 766 azokban történő részletes vizsgálata követett, mindig a tudomány aktuális állásának megfelelően.

Természetesen nemcsak ketten dolgoznak ezen a fontos témán: az évek során - a közlemények szerzőgárdájából nyomkövethetően - sok munkatárs fordult meg a csapatban. Legnagyobb szerepe Dr. Horváth Gyulának, Dr. Széll Erzsébetnek és Dr. Barabás Évának volt a Széchenyi díjasok mellett.

Így haladhatott a vegyület a fejlesztés útján annyire előre, hogy a multinacionális Eli Lilly érdekesnek látta licenz szerződésben megszerezni azt a Gyógyszerkutató Intézettől. Az első humán kipróbálásra már az idén sor került. Természetesen a feltalálók bíznak abban, hogy hamarosan gyógyszerre is válik - a különböző trombózisok kialakulásának hatásos ellenszere lesz, életmentő gyógyszer! Persze ez a "hamarosan" optimális esetben is mintegy 6 évet és sok sok millió dollár pénzráfordítást jelent. (Ez egyben azt is megmagyarázza, hogy miért nem vállalkozott magyar gyógyszergyár a kifejlesztésre.) De a GYKI-14 766-nak jó esélye van ma már arra, hogy valóban azzá váljon amivé felfedezői álmodták: jelentős számban előforduló, súlyos betegségek hatásos gyógyszerévé. Mindannyian szurkolunk a feltalálónak és a majdan a GYKI-14 766 által gyógyuló betegeknek!

Arányi Péter

Hivatkozások :

1. US Patent 4,703.039 (1987) to S.Bajusz, E.Széll, D.Bagdy, E.Barabás M.Diószegi, Zs.Fittler, F.Józsa, Gy.Horváth and É.Tomori.
2. S.Bajusz, E.Széll, D.Bagdy, É.Barabás, Gy.Horváth, M.Diószegi, Zs.Fittler, G.Szabó, A.Juhász, É.Tomori and G.Szilágyi - Highly Active and Selective Anticoagulants : D-Phe-Pro-Arg-H, a Free Tripeptide Aldehyde Prone to Spontaneous Inactivation, and Its Stable N-Methyl Derivative, D-Me-Phe-Pro-Arg-H . J-Med.Chem. 33, 1729-1735 (1990).

Ui. Amikor Tyihák Ernő, Egyesületünk főtitkára, március végén közölte velem, hogy lapunkban kívánnak megemlékezni a Széchenyi díjunktól, levélben tudattam vele a személyemre vonatkozó álláspontomat. Idézet levelemből : „Úgy vélem, vizszoletetszo lenne nem egy olvasónak, ha egy felelős szerkesztőtől az általa szerkesztett lapban jelennék meg méltatás." „Remélem, a tervezett megemlékezés földi pályafutásom befejezése utánra marad, ha addig nem válik időszerűtlenné." (bd)

- Arányi Péter írásának közlését Friedrich Péter, Egyesületünk elnöke, kérte, a kézirat egyidejű megküldésével, júliusban. (Fel.szerk.)



INVITATION

On behalf of the Swedish Biochemical Society the Organizing Committee cordially invites you to participate in the 22nd Meeting of the Federation of European Biochemical Societies.

SYMPOSIA

1. Human genome organization and molecular aspects of disease
2. Control of gene expression. Protein – DNA interactions
3. Cell-cell adhesion
4. Glycobiology
5. Molecular bioenergetics
6. DNA synthesis
7. Methods for analysis and fractionation of biological materials
8. Biochemistry of RNA
9. Protein synthesis and post-translational modification
10. Prediction and design of protein function
11. Cellular trafficking of macromolecules (protein targeting)
12. Molecular evolution
13. Macromolecular structure, dynamics and catalysis
14. Biochemical toxicology
15. Biochemistry of differentiation
16. Signal transduction
17. Molecular nutrition
18. Molecular immunology
19. Arachidonic acid metabolism
20. Chemistry of neuronal functions
21. Chemo-mechanical transduction and related processes
22. Molecular aspects on regulation of nitrogen fixation
23. Plant biochemistry and biotechnology
24. Molecular mechanisms in lipid metabolism
25. Biotechnology
26. Biochemistry and society
27. Biochemical education

FIRST ANNOUNCEMENT AND CALL FOR POSTER PRESENTATIONS

ACCOMMODATION

Accommodation will be available in hotels in different price ranges, all with access to good public transport to the congress center. Information about camp grounds and youth hostels will be included in the second circular.

SOCIAL PROGRAM

A daily social program for delegates and accompanying persons will be provided.

TRAVEL

Arlanda, the international airport just north of Stockholm, is conveniently accessible from most European cities and also from over-seas countries. There are also a number of train connections from the continent to the Central Railway Station in Stockholm.

SAS has been appointed the official carrier of the meeting.

FURTHER INFORMATION

Dr. Stefan Nordlund
FEBS 93
Department of Biochemistry
Arrhenius Laboratories
Stockholm University
S-106 91 Stockholm
Sweden
Telephone & Fax:
+ 46 8 15 77 94
Electronic mail:
STEFAN.NORDLUND@
ISAGEL.CELLBIO.SU.SE