

BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület tájékoztatója
Quarterly Bulletin of the Hungarian Biochemical Society

Szerkesztőbizottság:

ALKONYI ISTVÁN, BÁNFALVI GÁSPÁR, ELŐDI PÁL, FALUS ANDRÁS, FÉSÜS LÁSZLÓ,
GERGELY PÁL, HUDECZ FERENC, NYESTE LÁSZLÓ, SARKADI BALÁZS

Felelős szerkesztő:

SZÉKÁCS ANDRÁS

XXIV. ÉVF. 4. SZÁM

2000. DECEMBER

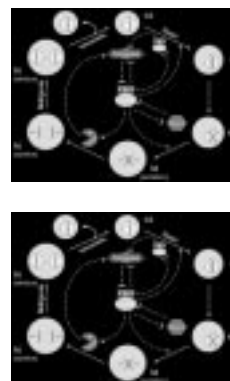
A tartalomról:

- ◇ Az eukarióta sejtciklus molekuláris dinamikája – *Novák Béla és John J. Tyson*
- ◇ A dUTPáz enzimcsalád: preventív DNS-javítás az uracil kizárásával – *Vértessy G. Beáta*
- ◇ Új módszer a bakteriális eredetű fehérje mennyiségi meghatározására a D-aszparaginsav- és a D-glutaminsav-tartalom alapján – *Csapó János, Schmidt János, Csapóné Kiss Zsuzsanna*
- ◇ A HPLC atyja 70 éves – *Tyihák Ernő*
- ◇ Beszámoló a NATO/FEBS nyári iskolájáról – *Buday László*
- ◇ Rövid beszámoló az 5. Jubileumi Formaldehid Konferenciáról – *Szilágyi Mihály*
- ◇ A harmadik „Hőgyes Délután” – *Nagy Tamás*
- ◇ Az áruló sejtek (könyvismertetés, R.A. Weinberg: Ha egy sejt megkegyül) – *Orosz Zsolt*
- ◇ Az önszervező élet (könyvismertetés, Paul Davies: Az ötödik csoda) – *Székács András*

Címlapkép:

(fent) Az eukarióta sejtciklus legfontosabb lépései és fázisai. Alacsonyabb rendű eukariótákban a sejtciklus legfontosabb eseményeit a Cdk1 B-típusú, mitózisos ciklínakkal (Cyc^{BM}) alkotott komplexe (MPF) szabályozza ellenség- és segédmolekulákkal kölcsönhatásban (ld. a vonatkozó közleményt a 98–104. oldalakon).

(lent) *Drosophila melanogaster* dUTPáz szerkezete. A homotrimer enzim különböző alegységei eltérő színben láthatók, a másodlagos szerkezeti elemek kiemelésével. A szubsztrátanalóg dUDP térkitöltő modellje az atomok standard kódja szerint színezett (fehér: szén, piros: oxigén, kék: nitrogén, narancssárga: foszfor). Az aktív centrumok az alegységek közötti felszíneken alakulnak ki, oly módon, hogy két alegység között helyet foglaló ligandum koordinálásában fontos szerepet vállal a harmadik alegység C-terminális szegmense, mely a ligandum fölé hajolva mintegy lezárja az aktív centrumot. (Fiser és Vértessy (2000) Biochim. Biophys. Res. Comm., sajtó alatt) (ld. a vonatkozó közleményt a 105–110. oldalakon).



Contents:

- ◇ Molecular dynamics of the eukaryotic cell cycle – *Béla Novák and John J. Tyson*
- ◇ The dUTPase enzyme family: preventive DNA-repair via exclusion of uracil – *Beáta G. Vértessy*
- ◇ A new method for the quantitative determination of proteins of bacterial origin on the basis of D-aspartic acid and D-glutamic acid content – *János Csapó, János Schmidt, Zsuzsanna Csapóné Kiss*
- ◇ The Father of HPLC is 70 years old – *Ernő Tyihák*
- ◇ Account of the NATO/FEBS summer school – *László Buday*
- ◇ A harmadik „Hőgyes Délután” – *Nagy Tamás*
- ◇ A harmadik „Hőgyes Délután” – *Nagy Tamás*
- ◇ Short account of the 5th Jubilee Formaldehyde Conference – *Mihály Szilágyi*
- ◇ Renegade cells (book review) – *Zsolt Orosz*
- ◇ The self-organizing feature of life (book review) – *András Székács*



Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület, 1518 Budapest, Pf. 7
e-mail: biokemia@nki.hu <http://korb1.sote.hu/biokemia/biokemia.htm>

Felelős kiadó: Dr. Friedrich Péter

Készült a dART studio gondozásában.

Az engedély száma: III/SZI/397/1977 HU ISSN 0133-8455

Az eukarióta sejtciklus molekuláris dinamikája

Molecular dynamics of the eukaryotic cell cycle

Novák Béla¹ és John J. Tyson²

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Mezőgazdasági Kémiai Technológia Tanszék, 1111 Budapest, Szt. Gellért tér 4.

² Virginia Polytechnic Institute and State University, Department of Biology, Blacksburg, VA 24061, USA.

Összefoglalás

Az elmúlt években a molekuláris biológia módszereinek köszönhetően fény derült az eukarióta sejtek növekedését és osztódását szabályozó molekulák szövvényes hálózatára. Jóllehet ez a szabályozási hálózat olyan bonyolult, hogy pusztán verbális érvelésekkel nehéz megérteni működését, a *biokémiai reakciókinetika* olyan egzakt tudományos módszer, melynek alkalmazásával megjósolhatók a molekuláris szabályozási hálózat dinamikai tulajdonságai.

Novák, B.¹ and Tyson, J. J.²

¹ Budapest University of Technology and Economics, Department of Agricultural Chemistry and Technology, H-1111 Budapest, Szt. Gellért tér 4, Hungary

² Virginia Polytechnic Institute and State University, Department of Biology, Blacksburg, VA 24061, USA.

Summary

In recent years, molecular biologists have uncovered a wealth of information about the genetic network controlling cell growth and division in eukaryotes. Although the complex regulatory system defies understanding by verbal arguments alone, *biochemical kinetics* provide a precise scientific tool to predict the dynamic properties of the molecular network.

Bevezetés

A sejtek szaporodás révén önmagukkal azonos, vagy legalábbis közel azonos utódsejteket hoznak létre. Ennek előfeltétele, hogy két egymást követő sejtosztódás között, vagyis a *sejtciklus* alatt megduplázzák minden sejtalkotójuk mennyiségét, és azokat osztódáskor szétosszák a két utódsejt között. A genetikai információt hordozó DNS-molekuláknak különleges jelentőségük van a sejtalkotók között, ezért a DNS pontos lemásolása (*S-fázis*) és a másolás során keletkezett kópiák (ún. leánykromatidák) szétválasztása (*mitózis* vagy *M-fázis*) egy hallatlan precíz, külön ciklus, az ún. *kromoszóma ciklus* alatt történik (1. ábra). A DNS-replikáció kezdetét a kromoszóma ciklus *Start* eseményének,

a mitózisból való kilépést pedig *Befejezési* lépésének szokás nevezni [1].

1. ábra (lásd a címlapon) Az eukarióta sejtciklus legfontosabb lépései és fázisai. Alacsonyabb rendű eukariótákban a sejtciklus legfontosabb eseményeit a Cdk1 B típusú, mitózisos ciklínakkal (*CycB^M*) alkotott komplexe (MPF) szabályozza ellenség- és segédmolekulákkal kölcsönhatásban.

Az eukarióta sejtciklus során a kromoszómareplikációnak (*S-fázis*) és -szegregációnak (*M-fázis*) mindig felváltva kell bekövetkezniük, és újabb replikációra csak az előző szegregáció befejeződése után kerülhet sor. A kromoszómareplikáció és -szegregáció ezen szigorú alternálását az eukarióta sejtciklus alatt bonyolult, fehérjékből álló, molekuláris (biokémiai) szabályozó hálózat, a *sejtciklus gépezet* irányítja [2].

Tudományos munkásságának elismeréseként

John J. Tyson professzort

a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem 2000. március 4-én

Tiszteletbeli Doktorává

avatta.

Az eukarióta sejtciklus gépezet komponensei

A sejtciklus gépezet komponensei konzerváltak az eukarióták körében*, és legfontosabb komponensei olyan különleges *ciklindependens protein-kinázok* (röviden *Cdk*), amelyek aktivitása egy regulációs alegység (ciklin) kapcsolódásának függvénye. A Cdk/ciklin heterodimerben a Cdk a katalitikus alegység, amelynek azonban csak a ciklin alegység kapcsolódása esetén lehet aktivitása [3].

A Cdk/ciklin komplexek más fehérjék foszforilezése révén fejtik ki hatásukat, és protein-kináz aktivitásukra mind a DNS-replikáció, mind a mitózis megkezdéséhez szükség van. Alacsonyabb rendű eukariótákban (pl. élesztők) csupán egyféle Cdk alegység (Cdk1), míg magasabb rendűekben többféle Cdk (Cdk1, Cdk2 stb.) is szerepet játszik a sejtciklus gépezetben [1]. Hasonló különbségek tapasztalhatók a ciklinek számában is: élesztőkben B típusú ciklinek (CycB) Cdk1-gyel alkotott komplexei felelősek mind a DNS-replikáció, mind a mitózis indításáért; ezzel szemben magasabb rendű sejtekben A, D és E típusú ciklinek is szerepet játszanak.

A Cdk/ciklin komplexek közül a Cdk1 mitózisos, B típusú ciklinnel (CycB^M) alkotott komplexe (amit *M-fázist serkentő faktornak* vagy röviden *MPF*-nek szokás nevezni) lehet a legősibb, mert élesztőkben egymagában képes a DNS-replikáció és a kromoszómaszegregáció felváltva történő elindítására [4]. Mivel a DNS-replikáció a kizárólag MPF-fel szabályzott sejtciklusokban is mindig megelőzi a mitózist, ezért ez egyben arra is utal, hogy az előbbinek kisebb lehet a Cdk/ciklin protein-kináz aktivitásigénye, mint az utóbbinak [5].

A kromoszómareplikáció és -szegregáció megfelelő sorrendben történő alternálása megkívánja, hogy az MPF aktivitása kis és nagy értékek között váltakozzon a sejtciklus alatt [5, 6]. Ennek az a magyarázata, hogy az MPF általi foszforilezés nemcsak serkentő lehet egy adott sejtciklusfolyamat szempontjából, hanem gátló is. Az MPF a DNS-replikáció elindítását követően ugyanis megakadályozza, hogy a replikációs kezdőpontok másodszor is aktiválódjanak, vagyis gátolja a DNS újrareplikálódását [7]: az MPF foszforilezi az ún. *engedélyfehérjéket* („*licensing factors*”), amelyek foszforilezett formája gyorsan ubikvitineződik és a proteaszóma által lebomlik. Az MPF hatására tehát megindul a DNS-replikáció, de a replikációhoz szükséges engedélyfehérjék lebontása megakadályozza a replikációs kezdőpontok újabb aktiválódását. A sejtciklusban tehát léteznie kell egy olyan szakasznak, amikor az MPF aktivitása kicsi, hogy az engedélyfehérjék akkumulálódni tudjanak. Ez a sejtciklus *G₁-fázisa* alatt következik be, ami a kromoszómás ciklus *Befejezésétől* a következő *Startig* tart.

Az MPF aktivitásának megszüntetése a kromoszómás ciklus *Befejezési* lépésénél következik be, és ebben játszik szerepet a sejtciklus gépezet másik esszenciális komponense az *anafázist serkentő faktor* vagy röviden *APC* [8]. Az APC bizonyos fehérjék ubikvitinezését végzi és az így módosított fehérjék gyorsan lebomlanak. Az APC-nek két fontos szerepe: (a) a leánykromatidákat összetartó kohezin fehérjék lebontása az anafázis során (1. ábra) és (b) az MPF-aktivitás megszüntetése a kromoszómás ciklus *Befejezési* lépésénél.

* A sejtciklus-szabályozók konzerváltsága ellenére az egyes fajokban a homológ komponenseket történeti okokból különböző névvel illetik. A könnyebb áttekinthetőség érdekében, ahol csak lehetett, megpróbáltunk általános elnevezéseket használni az egyes komponensekre. A fajspecifikus és az általános elnevezésekről az 1. táblázat nyújt áttekintést.



John J. Tyson a PhD-fokozat (*University of Chicago*, 1973) megszerzését követően a göttingeni Max-Planck Intézetben és az Innsbrucki Egyetemen volt posztdoktor. 1978 óta a *Virginia Polytechnic Institute and State University* tanára, 1996 óta pedig „Distinguished” professzora. 1993–95 között a *Society for Mathematical Biology* elnöke, 1995 óta pedig a *Journal of Theoretical Biology* főszerkesztője. Kutatásainak témája a kémiai és biológiai rendszerek térbeli és időbeli szerveződésének elméleti vizsgálata.

Novák Béla (biológus-mérnök, BME-ELTE, 1980) 1987-ben kandidátusi, 1999-ben pedig MTA Doktora címet szerzett. A BME Mezőgazdasági Kémiai Technológia Tanszékének egyetemi tanára. Összesen három évig volt ösztöndíjas kutató az Edinburghi Egyetemen, Murdoch Mitchison professzor laboratóriumában. 1991 óta dolgozik együtt John Tyson professzorral a sejtciklus matematikai modellezésén, 1995 óta a Howard Hughes Medical Institute (USA) támogatásával.

I. táblázat A sejtciklus gépezet néhány komponensének nómenklatúrája.

Funkció	Általános név	Sarjadzó élesztő	Hasadó élesztő	Emlős sejt
Start kináz	Cdk1/Cln	Cdk1/Cln	Cdk1/Puc1	Cdk4/CycD
S-fázist serkentő faktor	SPF	Cdk1/Clb5-6	Cdk1/Cig2	Cdk2/CycE, A
M-fázist serkentő faktor	MPF	Cdk1/Clb1-4	Cdk1/Cdc13	Cdk1/CycB
Cdk-inhibitor	CKI	Sic1	Rum1	p27 ^{Kip1}
CycB-degradáció G ₁ -fázisban	Cdh1	Cdh1 (Hct1)	Ste9 (Srw1)	Cdh1
CycB-degradáció M-fázis végén	Cdc20	Cdc20	Slp1	p53cdc

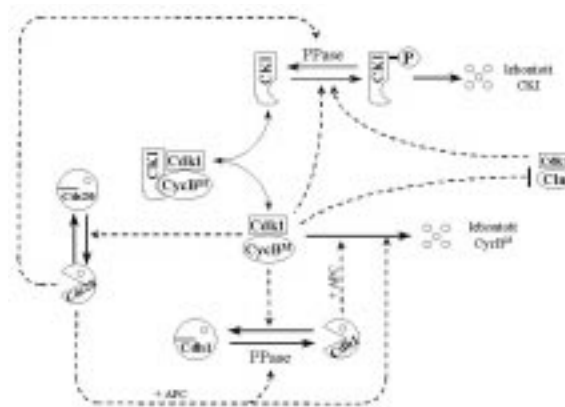
Az eukarióta sejtciklusban tehát alapvetően két állapot különböztethető meg [1, 6]: a kis MPF-aktivitású G₁ állapot, amikor a replikációs kezdőpontokhoz engedélyfehérjék kapcsolódnak (*prereplikációs komplex*), és felkészülnek a DNS későbbi lemásolására, valamint egy növekvő MPF-aktivitással jellemezhető S/G₂/M állapot, amikor a replikációs origók posztreplikációs állapotban vannak az engedélyfehérjék hiánya következtében. A szabályozási rendszer a *Start*-nál kapcsol a G₁-ből az S/G₂/M állapotba, a *Befejezés*-nél pedig visszakerül a G₁-be (1. ábra).

Antagonizmus az MPF és ellenségei között

Az MPF aktivitása „ellenségmolekulákkal” való kölcsönhatásban szabályozódik (1. ábra). Az MPF ellenségei különböző módon negatív hatást gyakorolnak az MPF protein-kináz aktivitására. Az MPF azonban képes ellenségei inaktiválására, és ezáltal a szabályozási hálózatban *antagonisztikus versengés* figyelhető meg közöttük [9].

Az MPF egyik ellensége a G₁-fázisban az APC komplex Cdh1 fehérjéje (I. táblázat). A Cdh1 specifikusan felismeri a CycB^M-t, és azt az APC számára szubsztrátként jelöli ki, aminek következtében a CycB^M gyorsan ubikviteneződik és lebomlik [8]. Ily módon a Cdh1 negatív hatást gyakorol az MPF-re (2. ábra). A Cdh1 asszociációja az APC-vel viszont foszforilezés útján szabályozódik, vagyis a foszforilezett forma nem képes kapcsolódni az APC-vel. Az MPF pedig foszforilezni és ezáltal inaktiválni képes a Cdh1-t (2. ábra), ezzel megszüntetve ciklin alegységének lebontását [8].

Az MPF másik ellensége egy *sztochiometrikus Cdk-inhibitor* (röviden CKI) (2. ábra). A CKI specifikusan kötődik az MPF-hez, és gátolja annak kináz aktivitását [10, 11]. Az MPF azonban képes a CKI gátló hatásának megszüntetésére, mert foszforilezni tudja a CKI-t, majd annak foszforilezett formája (az engedélyfehérjékhez hasonlóan és azonos mechanizmussal) ubikviteneződik és gyorsan lebomlik (2. ábra).



2. ábra Az MPF aktivitásának szabályozása ellenség- és segédmolekulákkal. A folytonos nyilak biokémiai reakciókat, míg a szaggatott vonalak szabályozási szignálokat reprezentálnak: a nyilak aktiválást, míg a tompa végű vonalak gátlást jelentenek.

Az MPF aktivitásának harmadik szabályozási lehetősége, katalitikus alegységének (Cdk1) reverzibilis foszforilezésén/defoszforilezésén alapul, ami a sejtciklus G₂-fázisának hosszát szabályozza [12]**.

Fontos észrevennünk, hogy az MPF és ellenségei között fennálló antagonizmus (kölcsönös gátlás) tulajdonképpen pozitív visszacsatolási kört ered-

** Egyszerűbb eukariótákban (pl. sarjadzó élesztő) a G₂-fázis nem esszenciális része a ciklusnak, mert a mitózis korai eseményei (magorsó kialakulása stb.) átlapolhatnak a DNS-replikációval, ezért ennek szabályozásával csak később foglalkozunk.

ményez: az antagonisztikus versengés szereplői ellenségük gátlása révén pozitív hatással vannak önmaguk szintjére vagy aktivitására [9].

A sejtciklusátmenetek segédmolekulái

A fentebb tárgyalt antagonizmus következtében az MPF és ellenségei nem lehetnek egyszerre jelen. Ha az MPF ellenségei az erősebbek, és legyőzik az MPF aktivitását, akkor a sejt G_1 -fázisban tartózkodik. Ha pedig az MPF az erősebb, akkor a G_1 -fázisú ellenségei kis koncentrációban vannak jelen, és a sejt S/ G_2 /M-fázisokban tartózkodik.

A sejtciklus egyik fázisából a másikba történő átmenethez segédmolekulákra van szükség. A *Start* átmenet segédmolekulái ugyancsak Cdk/ciklin komplexek, amelyek azonban nem érzékenyek az MPF ellenségeire [13]. Élesztőkben ezek a kinázok ugyanazon Cdk (a Cdk1) Cln típusú ciklinekkel alkotott komplexei (1. táblázat). A Cdk/Cln komplexek úgy segítik az MPF megjelenését a *Start*-nál, hogy foszforilezik a CKI-t, és ezáltal serkentik annak bomlását [11].

A *Befejezés* segédmolekulája pedig az APC Cdc20 komponense [8], amely az MPF ellenségeinek megjelenését segíti elő (2. ábra). A Cdc20 azért képes elősegíteni a kromoszómás ciklus *Befejezési* lépését, mert a Cdh1-gyel ellentétben, az MPF általi foszforilezés nem gátolja, hanem aktiválja (2. ábra).

Ellenőrzési mechanizmusok és negatív visszacsatolások

A *Start*ot és a *Befejezést* elősegítő segédmolekulák ellenőrzési mechanizmusokkal szabályozottak. A *Start* eseménynél a sejt méretének (a citoplazma tömegének), míg a *Befejezés*nél a kromoszómák állapotának ellenőrzése történik: a *Start* előtt a nem elégséges sejtméret gátolja a Cln-ek szintézisét, a *Befejezés* előtt pedig a nem teljesen replikálódott DNS és a magorsófonalokhoz nem tapadt kromoszómák fékezik a Cdc20 aktiválódását.

A segédmolekulák aktivitását azonban nemcsak ellenőrzési mechanizmusok, hanem *negatív visszacsatolások* is szabályozzák. Ugyanis a segédmolekulák, miután kifejtették hatásukat egy adott sejtciklusátmenetnél, gátlólag hatnak az azt követő, azzal ellentétes átmenet során. Így pl. a Cdk1/Cln a CKI gátlásával segíti az MPF-aktivitás megjelenését, a megjelenő MPF-aktivitás viszont gátolja a

Cln szintézisét [14]: $Cln \rightarrow CKI \rightarrow MPF \rightarrow Cln$ (2. ábra).

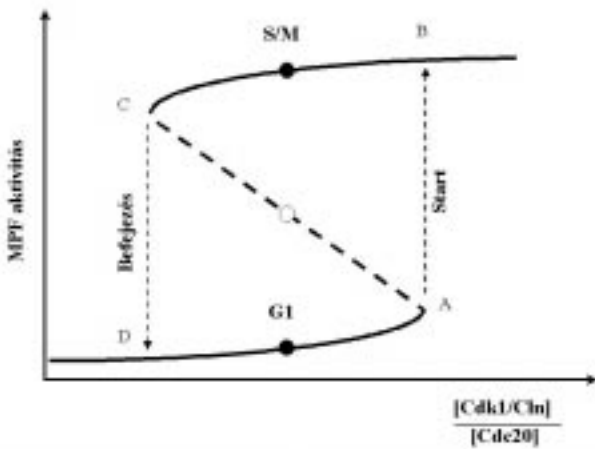
A Cdc20 vonatkozásában két negatív visszacsatolási kör is felfedhető [15]. A Cdc20 aktivitása MPF-függő ($MPF \rightarrow Cdc20$), a Cdc20 azonban két útvonalon is az MPF-aktivitás megszüntetéséhez vezet (2. ábra): (1) a Cdc20 az APC segítségével lebontja az MPF CycB^M alegységét, amitől az MPF elveszti aktivitását ($Cdc20 \rightarrow MPF \rightarrow Cdc20$), (2) a Cdc20 egy foszfatázon keresztül az MPF ellenségeit (Cdh1 és CKI) aktiválja ($Cdc20 \rightarrow (Cdh1, CKI) \rightarrow MPF \rightarrow Cdc20$).

Hiszterézis a sejtciklus szabályozásában

A MPF aktivitásának szabályozását bemutató 2. ábra az eukarióta sejtciklus gépezet „vázát” jelenti csak, mégis elég nehéz átlátni a rendszer működését. Még inkább így van ez a sokkal komplikáltabb szabályozási hálózatok esetében. Ilyen bonyolult szabályozási hálózat rejtjelmeinek megfejtésében a *biokémiai reakciókinetika* módszere lehet segítségünkre. Nem kell mást tenni, mint a szabályozási hálózatot a biokémiai reakciók kinetikai módszerével differenciálegyenletekké alakítani, és az egyenletek megoldása leírja a szabályozási rendszer viselkedését. Ebben a rövid áttekintésben természetesen csak általános elveket és az azokból levonható következtetéseket ismertetjük.

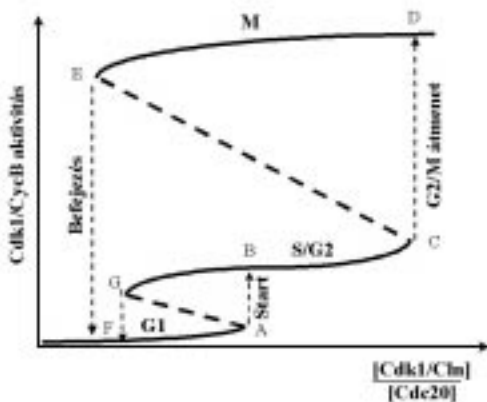
Ezt a módszert követve megmutatható, hogy a 2. ábrán látható szabályozási rendszer alapvetően két stabil állandósult állapottal (*steady state*) rendelkezik, amelyek MPF-aktivitás tekintetében alapvetően eltérőek (3. ábra): a kis MPF-aktivitású állapot a sejtciklus G_1 -fázisának, míg a nagy MPF-aktivitású állapot az S/M-fázisoknak felel meg. Hogy melyik állandósult állapotban tartózkodik a rendszer, az a *Start*ot (Cdk1/Cln) és a *Befejezést* (Cdc20) elősegítő, két segédmolekula arányának függvénye: ha ez az arány kicsi, akkor G_1 -fázisban, ha pedig nagy akkor S/M-fázisban tartózkodik a rendszer. Köztes értékeknél mindkét stabil állapot létezik (*bistabilitás, alternatív állandósult állapotok*), és hogy melyikben tartózkodik a rendszer, az előtörténetének függvénye, amit *hiszterézishatásnak* szokás nevezni.

Szaporodása során a sejt ezen a hiszteréziskörön forog körbe: a G_1 -fázisú sejtekben növekszik a Cln koncentráció, mert a kis MPF-aktivitás nem gátolja



3. ábra Az MPF aktivitása hiszterézissel szabályozott: az MPF-szabályozási rendszer stabil állandósult állapotait (folytonos vonalak), instabil állandósult állapotok választják el (szaggatott vonal), ahol sosem tartózkodhat a rendszer.

a Cln-szintézist, ezért jobbra haladunk az ábrán, mert a számláló növekszik. Ez a *Start*on keresztül („A” pont) a nagy MPF aktivitású S/M állapotba („B” pont) juttatja a rendszert. A megnövekedett MPF-aktivitás hatására azonban a Cln-szintézis gátlódik, a Cdc20 aktivitása pedig megnő. Ennek eredményeként a $[Cdk1/Cln]/[Cdc20]$ arány lecsökken (balra mozgunk az ábrán), de a hiszterézis miatt a rendszer mégsem billen azonnal vissza a G₁-fázisba. Amikor a kromoszómák készen állnak a szegregációra, a Cdc20 teljesen aktiválódik („C” pont) és ez a hatás *Befejezés*en keresztül visszabilenteli a rendszert a G₁-fázisba („D” pont). Mivel ekkor az MPF-aktivitás lecsökken, és mivel a Cdc20 szintézise MPF-függő, a Cdc20 szintje leesik és visszajutunk az eredeti G₁ állapotba.



4. ábra Az MPF gátló foszforilezése esetén három stabil sejtciklus állapot létezik jellegzetesen különböző MPF-aktivitásokkal: G₁, S/G₂ és M.

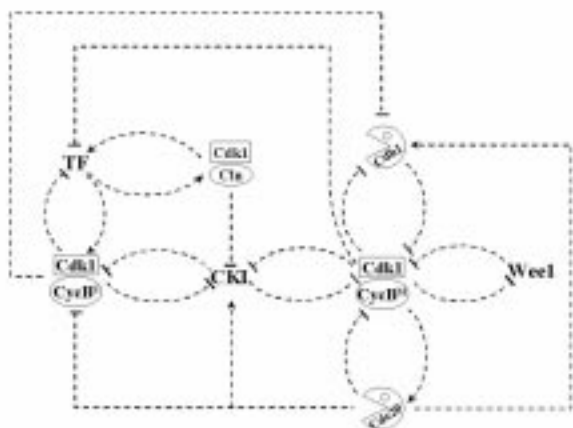
A G₂-fázis szabályozása a Cdk1 enzimatis gátlásával

A Cdk1 katalitikus alegység aktív centruma foszforilezhető aminosav-oldallánccokat tartalmaz, melyeknek foszforilezése (részlegesen) gátolja a Cdk1 protein-kináz aktivitását [12]. Ezt a gátló foszforilezést a Wee1 típusú protein-kinázok végzik, és az antagonizmus jelensége itt is felfedhető [16]. A Wee1 kináz aktivitása ugyanis foszforilezéssel szabályozott (foszforilezett formája inaktív), az MPF pedig képes a Wee1 foszforilezésére és ezáltal annak inaktiválására [17]. A G₂-fázis szabályozásában az MPF és a Wee1 közötti antagonizmusból adódó pozitív visszacsatoláson kívül egy másik pozitív visszacsatolás is szerepet játszik [18]. A gátló foszfátcsoport eltávolításáért a Cdc25 típusú foszfátázok felelősek, amelyek szintén foszforilezéssel szabályozottak, de a Wee1-gyel ellentétben itt a foszforilezett forma az aktív. Mivel a Cdk1/CycB^M képes a Cdc25 foszforilezésére és aktiválására, a gátló foszfátcsoport eltávolítása pozitív visszacsatolással gyorsított folyamat [17]. A Cdk gátló foszforilezését felhasználó sejtekben három különböző Cdk-aktivitással jellemezhető stabil sejtciklus állapot létezik (4. ábra) [19, 20].

Munkamegosztás az S- és M-fázisú ciklinek között

A vad típusú élesztőkben a CycB^M mellett S-fázisú B típusú ciklinek (CycB^S) is jelen vannak [13, 21], amelyeknek Cdk1-gyel alkotott komplexe az S-fázis indításában játszik szerepet, ezért *SPF*-nek (*S-fázist serkentő faktor*) nevezzük. Mivel élesztőkben az SPF és az MPF felépítése nagyon hasonló, ezért szabályozásuk is sok rokon vonást mutat. Ennek ellenére, vannak különbségek, mert az SPF aktivitását a CKI gátolja ugyan, de általában a gátlás gyengébb, ciklin alegységét pedig a Cdc20/APC bontja, a Cdh1/APC viszont nem.

Megállapítható, hogy az SPF az MPF-nél kevésbé érzékeny a Cdk1/CycB ellenségeikkel szemben. Mivel az SPF is képes foszforilezni a CKI-t, ezért azzal az SPF is antagonizmusban áll. Az SPF a Cdh1 foszforilezéses inaktiválásával pedig elősegíti a CycB^M akkumulációját és az MPF aktiválódását (5. ábra).



5. ábra Az SPF és MPF szabályozása az élesztők sejtciklusában: az ábrán biokémiai folyamatokat (szintézis, degradáció stb.) nem tüntettünk fel, csupán a szabályozási szignálokat (a 2. ábrán alkalmazott nomenklatúra szerint), amelyek ezekre a folyamatokra hatnak, és amelyek révén az egyik komponens a másik koncentrációját vagy aktivitását befolyásolja.

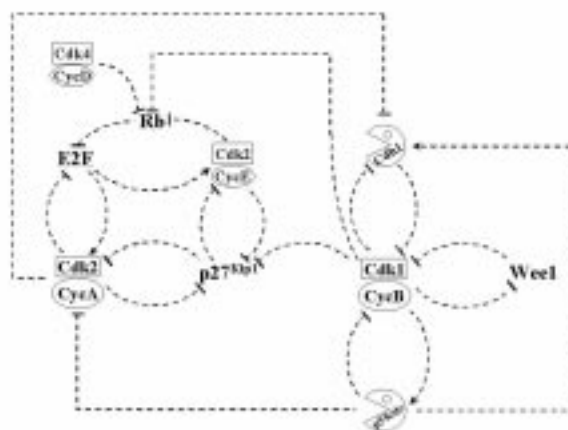
Az SPF-aktivitás az MPF-hez hasonlóan nemcsak pozitív visszacsatolással (antagonizmus a CKI-val), hanem negatív visszacsatolással is szabályozott. Míg azonban az MPF esetében a negatív visszacsatolás a mitózis anafázisát serkentő Cdc20/APC komplex révén a mitózis végén valósul meg, addig az SPF esetében ez sokkal korábban érvényesül. Az SPF-aktivitás ugyanis gátolja az S-fázisú ciklinek (CycB^S) szintéziséért felelős transzkripciós faktort (TF), ezzel megszüntetve a saját szintézisét (5. ábra). Az SPF és az MPF negatív visszacsatolások szabályozásában megfigyelhető jelentős időkülönbség eredményeként a SPF maximuma a sejtciklusban jelentősen megelőzi az MPF maximumát.

Endoreplikációs ciklusok

Bizonyos fejlődési folyamatokban az S- és M-fázisok alternálásából álló mitotikus ciklusok átalakulnak periódusos DNS-szintézisből álló ún. *endoreplikációs ciklusokká*. Ilyenkor a sejtek a G₂-fázisból visszakérülnek G₁-fázisba anélkül, hogy mitózison mentek volna keresztül. Általánosan megállapítható, hogy az endoreplikációs ciklusok alatt nem mutatható ki MPF aktivitás [22], ezért a 4. ábrán látható két S alakú görbének csak az alsó S ága létezik, és az endoreplikáló sejtek az SPF aktivitás előző pontban említett negatív visszacsatolások szabályozásával az A → B → G → F hurkon haladnak körbe [23].

Sejtciklus gépezet többsejtes szervezetek sejtjeiben

Magasabb rendű eukariótákban a sejtciklus gépezet többféle Cdk és ciklin alegységet tartalmaz, és emiatt a szabályozási hálózat első látásra sokkal komplikáltabbnak tűnik (6. ábra). Nagyon megkönnyíti a szabályozási hálózat áttekintését, ha összevetjük az élesztősejtek általánosított sejtciklus gépezetével (5. ábra). Láthatóan a korai ciklinek (CycE és CycA) szintéziséért felelős transzkripciós faktor (E2F) most is pozitív visszacsatolással szabályozott. A pozitív visszacsatolás azonban nem a transzkripciós faktor Cdk/ciklin komplex (Cdk2/CycE) általi közvetlen aktiválásával valósul meg, hanem egy transzkripciós inhibitor (Rb = retinoblasztoma fehérje) foszforilezéses inaktiválásával. A másik különbség az, hogy emlős sejtekben a CKI (p27^{Kip1}) nem gátolja az MPF-et, hanem csak az SPF-et, ami a Cdk2/CycA és a Cdk2/CycE együttes aktivitásának tulajdonítható.



6. ábra Szabályozási szignálok az emlős sejtek sejtciklus gépezetében.

Mivel többsejtes szervezetekben a sejtciklus-szabályozásnak „szociális” követelményeknek is eleget kell tennie, ezért a sejtciklus gépezet működését külső körülmények (pl. növekedési faktorok jelenléte vagy hiánya) is befolyásolja [24]. Ez úgy valósul meg, hogy a ciklinek egyik csoportjának (CycD) szintézisét a növekedési faktorok sejt felszíni receptorok által szignálátvivő hálózaton keresztül szabályozzák: a CycD-szint növekedési faktorok jelenlétében nagy, míg hiányuk esetén kicsi (illetve nulla). A CycD Cdk4-gyel illetve Cdk6-tal alkotott komplexei pedig starter kinázként működnek közre az Rb foszforilezésében. Az Rb foszforilezé-

ses inaktiválását a Cdk2/CycE komplex ugyanis nem tudja elkezdni, mert a CycE szintézisét az Rb gátolja (pozitív visszacsatolás).

Tévedés lenne azt hinni, hogy a matematikai leírás csak egyszerűbb molekuláris szabályozó hálózatok esetén használható. Éppen ellenkezőleg, a matematikai modellezés éppen az ilyen komplikált szabályozási hálózatok, mint pl. az emlős sejtciklus gépezet működésének megértésében lehet a legnagyobb segítségünkre.

Irodalomjegyzék

- [1] Nasmyth, K. (1995) *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, **349**: 271-281.
- [2] Murray, A., Hunt, T. (1993) In: *The Cell Cycle* (W.H. Freeman & Co., New York,).
- [3] Morgan, D. (1995) *Nature*, **374**: 131-134.
- [4] Fisher, D., Nurse, P. (1996) *EMBO J.*, **15**: 850-680.
- [5] Stern, B., Nurse, P. (1996) *Trends Genet.*, **12**: 345-350.
- [6] Nasmyth, K. (1996) *Science*, **274**: 1643-1645.
- [7] Wuarin, J., Nurse, P. (1996) *Cell*, **85**: 785-787.
- [8] Zachariae, W., Nasmyth, K. (1999) *Gen. Dev.*, **13**: 2039-2058.
- [9] Novák, B., Csikász-Nagy, A., Györfly, B., Nasmyth, K., Tyson, J. J. (1998) *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, **353**: 2063-2076.
- [10] Moreno, S., Nurse, P. (1994) *Nature*, **367**: 236-242.
- [11] Schwob, E., Bohm, T., Mendenhall, M., Nasmyth, K. (1994) *Cell*, **79**: 233-244.
- [12] Nurse, P. (1990) *Nature*, **344**: 503-508.
- [13] Nasmyth, K. (1996) *Trends Genet.*, **12**: 405-412.
- [14] Amon, A., Tyers, M., Futcher, B., Nasmyth, K. (1993) *Cell*, **74**: 993-1007.
- [15] Novák, B., Tóth, A., Csikász-Nagy, A., Györfly, B., Tyson, J. J., Nasmyth, K. (1999) *J. Theor. Biol.*, **199**: 223-233.
- [16] Novák, B., Tyson, J. (1993) *J. Cell Sci.*, **106 (Pt 4)**: 1153-1168.
- [17] Coleman, T., Dunphy, W. (1994) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **6**: 877-882.
- [18] Novák, B., Tyson, J. (1993) *J. Theor. Biol.*, **165**: 101-134.
- [19] Novák, B., Csikász-Nagy, A., Györfly, B., Chen, K., Tyson, J. (1998) *Biophys. Chem.*, **72**: 185-200.
- [20] Sveiczter, A., Csikász-Nagy, A., Györfly, B., Tyson, J. J., Novák, B. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 7865-7870.
- [21] Fisher, D., Nurse, P. (1995) *Semin. Cell Biol.*, **6**: 73-78.
- [22] Hayles, J., Fisher, D., Woollard, A., Nurse, P. (1994) *Cell*, **78**: 813-822.
- [23] Novák, B., Tyson, J. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**: 9147-9152.
- [24] Zetterberg, A., Larsson, O., Wiman, K. (1995) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **7**: 835-842.

A Magyar Tudományos Akadémia SzBK Enzimológiai Intézet
DNS-metabolizmus és -javítás kutatócsoportja felvételekre keres

tudományos kutatót

A kutatási téma: a dUTPáz antagonizmus szerepe a timinmentes sejtthál mechanizmusában (ld. Vértessy G. Beáta szemközti oldalon kezdődő összefoglaló cikkét (105–110. old.). A munkakört betöltő feladata lesz a dUTPáz endogén antagonizmusának jellemzése, a molekuláris biológia, fejlődésbiológia, szerkezeti biológia, enzimológia eszköztára révén. Ezekben való jártasság, továbbá a PhD-fokozat előny, de nem követelmény. Pályakezdők, doktori iskolai programban részt venni szándékozók jelentkezését is várjuk.*

Követelmények: szakirányú végzettség (ELTE vagy más tudományegyetem vegyész, biológus, kémia vagy biológia tanári diploma, illetve BME vagy más műszaki egyetem vegyész-mérnöki, biológus-mérnöki diploma), angol nyelvvizsga, kutatói érdeklődés, elkötelezettség.

Mindkét munkakör bérezése a közalkalmazotti bérskála szerint történik, melyet munkaköri pótlék, nyelvpótlék és teljesítménytől függő további juttatások egészítenek ki. A munkakört betöltő jogosult a MTA jóléti intézményeinek igénybevételére.

A MTA SzBK az Európai Unió Kiválósági Központja. Az Enzimológiai Intézetben újonnan alakult DNS-metabolizmus és -javítás kutatócsoport kiemelt külföldi és hazai támogatást élvez.

Jelentkezés: a kutatócsoport vezetőjénél, Dr. Vértessy G. Beátánál, önéletrajzzal, esetlegesen referenciákkal.

E-mail: vertessy@enzim.hu, telefon: 4665-633/116, fax: 4665-465
levélcím: Enzimológiai Intézet, 1113 Budapest, Karolina út 29–31.

* **További információ** (és a releváns publikációs lista) a honlapon:
<http://www.enzim.hu/inst/groups.nf.html>, <http://www.enzim.hu/~vertessy/>.

szakképzett vegyésztechnikus

A kísérletes munka fehérjeexpressziós rendszerekre, fehérjetisztításra és fehérje- valamint DNS-vizsgálati módszerekre terjed ki. Az ezekben való jártasság előny, de nem követelmény, a laboratóriumban mindezen technikák megtanulhatók. A munkakör ezenkívül kiterjed a laboratórium technikai vezetésére (rendelések ügyintézése, a laboratórium rendben-tartása).

Követelmények: szakirányú végzettség (pályakezdők jelentkezését is várjuk), a molekuláris biológiai kutatás iránti érdeklődés, önálló munkavégzésre való igény és képesség. Szakirányú gyakorlat és az angol nyelv ismerete előnyt jelent.

A dUTPáz enzimcsalád: preventív DNS-javítás az uracil kizárásával

The dUTPase enzyme family: preventive DNA-repair *via* exclusion of uracil

Vértessy G. Beáta

MTA SzBK Enzimológiai Intézet,
1113 Budapest, Karolina út 29.

Összefoglalás

A DNS integritásának biztosítása és a nukleotid építőkövek szigorú metabolikus és fejlődési kontroll alatt álló bioszintézise minden élő szervezet számára az egyed- és fajfenntartás létfontosságú feladata. A dUTPáz enzim azon kevés fehérjék egyike, melyek mindkét folyamatban fontos szerepet játszanak. Az enzim a dUTP hidrolízisét katalizálja, termékei dUMP és inorganikus pirofoszfát. A homotrimer dUTPázok esetén mindhárom szimmetrikus aktív centrum felépítésében mindhárom alegység részt vesz. A katalizált reakció révén az enzim egyrészt szabályozza a sejtbeli dUTP-szintet, másrészt termeli a dTTP prekuzort. Az enzim hiányában kialakuló magas dUTP/dTTP arány uraciltartalmú DNS-t eredményez, ami a báziskivágáson alapuló javítómechanizmus hiperaktivitásán keresztül kromoszómafragmentálódáshoz vezet (timinmentes sejthalál). Az enzim esszenciális szerepére utal, hogy nem csupán eu- és prokariótákban van egyetemesen jelen, de herpeszvírusok és retrovírusok is egyaránt kódolják. A DNS-metabolizmusban és -javításban játszott fontos szerepe, továbbá expressziójának sejt differenciálódástól függő kontrollja miatt ez a fehérje új célpont lehet antivirális és antitumor hatású vegyületek kifejlesztésében.

Beata G. Vertessy

Institute of Enzymology, Biological Research Center, H-1113 Budapest, Karolina út 29.

Summary

The continued existence of a biological species over successive generations requires the maintenance of stable genetic information, together with strict metabolic and developmental control of biosynthesis of the nucleotide building blocks. One of the few protein factors essential in both of these processes is dUTPase. The enzyme catalyzes pyrophosphorolysis of dUTP, products are dUMP and inorganic pyrophosphate. Homotrimeric dUTPases build their three symmetric active sites by recruiting conserved sequence motifs from all the three subunits. By means of the catalyzed reaction, the enzyme regulates intracellular dUTP levels and produces the precursor for dTTP. Lack of dUTPase leads to an elevated dUTP/dTTP ratio which results in highly uracil-substituted DNA. Uracil-DNA induces the transformation of base excision repair into a hyperactive futile cycle leading to chromosome fragmentation and finally, thymine-less cell death. In addition to ubiquity in eu- and prokaryotes, the enzyme is encoded in herpesviral and retroviral genomes. The crucial function of dUTPase in DNA metabolism and repair, together with strict developmental control of its expression, identifies the protein as a potential new target for antiviral and antitumor drug design.



A dUTPáz enzim kutatásáért

Vértessy G. Beáta

elnyerte a Francia Tudományos Akadémia és az Aventis 2000. évi

„Scientia Europaea”-díját.

Az 1999 óta évente odaítélt díjat – melynek nem titkolt alapvető célkitűzése, hogy serkentse, mind több interdiszciplináris kutatási projekt induljon – különböző nemzetiségű és különböző tudományterületeken dolgozó fiatal kutatókból álló kutatócsoportok számára írták ki, s a jelölés feltétele, hogy az együttműködés nemzetközi szinten is kiemelkedő eredményeket mutasson fel.

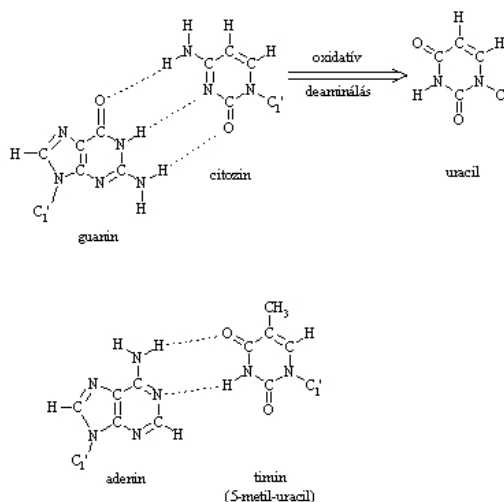
A díjazottnak gratulálunk, és a kitüntetett témát ehelyütt ismertetjük.

Bevezetés

A környezetünkben található mutagén ágensek a DNS alkotóelemeinek kémiai átalakítása révén örökletes változásokhoz vezetnek [1]. A DNS-ben megjelenő uracilhibát két folyamat is előidézheti, a citozin spontán, fiziológiás körülmények között is bekövetkező, oxidatív deaminálása (1. ábra) és a timin uracillal való helyettesítése [2]. A citozin deaminálás mutagén változás, mert a létrejövő uracil timinanalóg, ezért a következő replikációs ciklusban az eredeti C-G pár U_(T)-A-ra változik. Bár a T → U szubsztitúció nem mutagén, mégis káros, mert egyes transzkripció faktorok nem képesek felismerni a specifikus DNS-szekvenciákat, ha nincs jelen az 5-metilcsoport [3]. A DNS integritásának védelmére számos DNS-javító mechanizmust ismerünk. Ezekben közös, hogy felismerik és kijavítják a már bekövetkezett hibát, de azt megelőzni nem tudják. Nyilvánvaló, hogy egy preventív mechanizmus jóval hatékonyabb és előnyösebb lehet, sejtökonomiai és „sejtjóléti” szempontokból egyaránt (csakúgy, mint a betegségek megelőzése azok gyógyításával szemben). Mégis ritka, hogy kifejezetten preventív mechanizmussal találkozunk. A dUTPáz enzim egy ilyen preventív DNS-javító faktor, a dUTP/dTTP-szint hatékony ellenőrzése révén megelőzi az uracil DNS-be való beépülését. Nem csupán fontos élettani szerepe, de egyedülálló fehérjeszerkezeti tulajdonságai is érdekesítik arra, hogy közelebbről szemügyre vegyük. Ezen túlmenően, a jelen cikk röviden bemutatja egyes retrovírusok bifunkciós dUTPázait, és érinti a dUTPáz expresszió és antagonizmus gyakorlati érdeklődésre is számot tartó kérdéseit.

A dUTPáz enzim élettani szerepe

A dUTPáz által katalizált reakció (dUTP → dUMP + PP_i) két szempontból is fontos: egyrészt a termék dUMP a *de novo* dTTP-bioszintézis prekursora,



1. ábra A DNS-t alkotó bázisok és a citozin átalakulása timinanalóg uracillá. A szaggatott vonalak a Watson-Crick-féle bázispárosodást biztosító hidrogénhidakat jelölik. A citozin oxidatív deaminálása spontán reakció, egy vízmolekula részvételével játszódik le.

másrészt a reakció alacsonyán tartja a sejtbeli dUTP/dTTP arányt. Ezt a két szempontot tekintjük át a következőkben.

A pirimidin deoxiribonukleotidok bioszintézise

A *de novo* útvonal alapvető elsődleges metabolitja az UMP, amely glutamin, bikarbonát és ATP kiindulási anyagokból hat, enzim közreműködésével jön létre. Az ezt követő enzimatis foszforilációs és redukciós reakciókat általában véve a cukor alkotóelemre nézve kevésbé specifikus kinázok, illetve a bázis alkotóelemre kevésbé specifikus reduktázok katalizálják. A nukleotidkinázok és -reduktázok nagymértékben specifikusak a foszfátcsoportok számára nézve csakúgy, mint az uracilgyűrűt citozinná, illetve timinné alakító aminálási, illetve metilezési reakciókat katalizáló enzimek. Redukció ribonukleotidból deoxiribonukleotiddá elsősorban a difoszfát szinten történik, aminálás kizárólag az

Vértessy G. Beáta 1984-ben végzett a BME vegyész-mérnöki szakán, azóta a külföldi tanulmányutakat leszámítva a MTA SzBK Enzimológiai Intézetében dolgozik. 1987-ben *Master of Sciences* fokozatot nyert a Chicagói Egyetem (*University of Chicago*)



Biokémia és Molekuláris Biológia tanszékén. 1991-ben szerezte meg a biológiai tudomány kandidátusa fokozatot. 1993–94 között Alexander von Humboldt posztdoktorális ösztöndíja kapcsán kezdett foglalkozni a dUTPáz enzimcsaláddal. 2000. január 1-től az Enzimológiai Intézetben a DNS-metabolizmus és -javítás munkacsoport kialakítására kapott megbízást. A dUTPáz témával kapcsolatos eredményeiért és pályázataiért 2000-ben elnyerte a Francia Tudományos Akadémia és az *Aventis Scientia Europaea*-díját és a *Howard Hughes Medical Institutes (USA) International Research Scholar* díját.

UTP-formából (CTP szintáz enzimmal), míg metilezés kizárólag a dUMP-formából (dTMP szintáz – kissé másképp nevezve timidilát szintáz – enzimmal) indul ki. UMP prekursorból az itt leírt reakciókkal mind a kilenc lehetséges pirimidin deoxiribonukleotid létrehozható, d(C,U,T)(mono, di, tri)P.

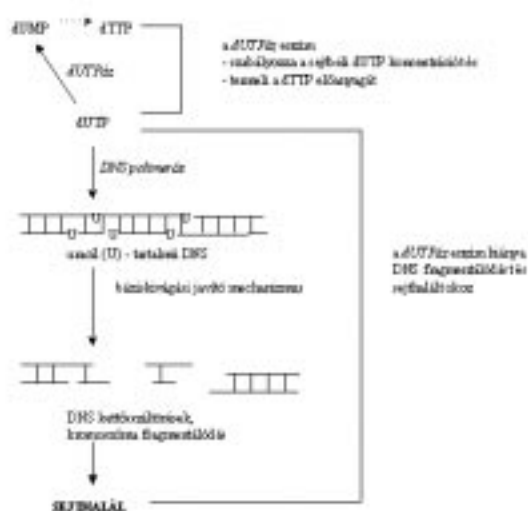
A dCTP/dTTP arány hatékony szabályozása érdekében azonban az aminálás a deoxiribonukleotid szinten megfordítható. Eukariótákban a deaminálás a dCMP-ből történik dUMP-vé, amit a dTMP szintáz rögtön felhasznál. Prokariótákban a dCTP deamináz dUTP-t termel, amelyből a dUTPáz enzim anorganikus pirofoszfát lehasításával dUMP-t hoz létre a dTMP szintáz számára. Mind pro-, mind eukariótákban UMP-ből kiindulva is képződik dUTP (UMP → UDP → dUDP → dUTP útvonalon). A dUTP az egyetemlegesen jelen lévő dUTPáz enzim révén irányítható a dTTP-szintézis felé, és a dUTPáz a felelős azért, hogy a sejtbeli dUTP/dTTP arány 10^2 – 10^3 közötti alacsony értéken maradjon [4].

Az alacsony dUTP/dTTP arány szigorú kontrolljának jelentősége

Ennek megítélésére legegyszerűbb, ha áttekintjük, mi is történne akkor, ha a dUTPáz enzim hiányában nem érvényesülne ez a kontroll. Ha a dUTP-szint összemérhető a dTTP-szinttel, akkor a DNS polimeráz adeninnel szemben azonos valószínűséggel építhet be timint és uracilt, mivel a két bázis közötti egyedüli különbséget – a metilcsoport meglétét, illetve hiányát – nem érzékeli [5–7]. A DNS-ben megjelenő uracilt hibaként észleli az a rendkívül hatékony, báziskivágáson alapuló javítómechanizmus, amelynek elsődleges feladata a citozin spontán oxidatív deaminálásából keletkező „mutagén” uracil eltávolítása (v.ö. 1. ábra) [8,9]. Ez a báziskivágási javítómechanizmus az uracil-DNS-glikozidáz enzimmal indul, amely felismeri az uracilt a DNS-ben, de nincs tekintettel arra, hogy az uracil timinszubsztituens vagy deaminált citozin (mely információ a komplementer szárlól leolvasható lenne). A javítás során újra szerepet játszik a DNS polimeráz, amikor a kivágott bázis helyére újat kell beépíteni [10]. dUTPáz hiányában a magas dUTP-szint mellett ebben a lépésben könnyen visszakerül az uracil a DNS-be, vagyis a javítómechanizmus így hiábavaló ciklussá degradálódik. Ráadásul, a sok helyen timin helyett beépülő uracil a ciklus hiperaktivitását is indukálja, és kettősszáltörésekhez vezet. A kromoszóma fragmentálódása a

sejt halálát okozza. Ezt a folyamatot timinmentes sejtihaláltnak nevezzük, mert kiindulásáért a dTTP alkotóelem hiánya, illetve az ezzel összefüggésben jelentkező dUTP-többlet a felelős.

A 2. ábra a dUTPáz kettős funkcióját tekinti át. Az enzim ilyen szerepéről tanúskodnak azok a pro- és eukarióta szervezetekkel végzett kísérletek, ahol a dUTPáz gén nullmutációja kromoszómafragmentálódást okozott, valamint a dUTPáz és az uracil-DNS-glikozidáz gének együttes nullmutációja jelentősen segítette az organizmus túlélési esélyeit, ám növelte mutagenicitását (a C → U hiba javításának elmaradása révén) [11,12].



2. ábra A dUTPáz szerepe a dTTP-bioszintézisben és a DNS uracilmentességének biztosításában.

A dUTPáz élettani szerepének áttekintése arra is magyarázatot szolgáltat, hogy miért helyettesíti az uracilt timin a DNS-ben, míg az RNS-ben megfelelőnek bizonyul az uracil az adenin bázispárjaként. A DNS és az RNS közti egyik alapvető különbség a genetikai információ tárolásának időtartama: az RNS-vírusok kivételével az élővilágban a DNS a hosszú távú, míg az RNS a rövid távú információátoló forma. A citozin uracillá való spontán deaminálása lassú reakció (normál méretű emlős genomban egy nap alatt 10^2 nagyságrendű deaminálási esemény zajlik le) [1], számottevő mutagén hatása csak akkor várható, ha az információátoló időtartama napokban mérhető. Ez a helyzet a DNS esetén, így a feltételezhető ősi RNS-világ után a DNS-ben gondoskodni kellett a mutagén uracil eltávolításáról. Sajnos, a javítómechanizmus nem bizonyult tökéletesnek, mivel nem

tesz különbséget deaminált citozin és adeninpartnerként jelentkező uracil között. Igény mutatkozott az adeninpartner uracil valamilyen megkülönböztetésére, ez végül is egy metilcímkeben öltött testet, így a timin lett az adenin partnere*.

Az enzim esszenciális voltát igazolja, hogy nullmutációja több fajban bizonyítottan letális [11,12], továbbá az a tény, hogy számos vírus limitált méretű genomjában kódolja saját dUTPázát [13]. Virális dUTPáz gének enzimaktivitás-csökkenését okozó mutációja egyes lentivírusok (fertőző lóanémia-vírus, macskafélék AIDS-virusa), valamint a humán herpeszvírus 1 esetében egyaránt gátolja a vírus fertőző- és szaporodóképességét [14,15]. A virális életciklus során a saját, víruskódolt dUTPázra különösen akkor van szükség, ha a gazdasejt nem osztódó, hanem nyugvó, differenciált sejt típus. Ekkor ugyanis a gazdasejt dUTPáz-szintje az enzimaktivitás sejt ciklustól és egyedfejlődési állapotól függő kontrollja miatt alacsony. Ebből az is következik, hogy a sejtbeli dUTPáz gátlása elsősorban aktívan osztódó sejtekre káros, ezért a dUTPáz inhibitorok tumorelles hatásaik lehetnek. Több tumor sejt vonal szaporodásának gátlása volt előidézhető egy nem hidrolizálható dUTP-analóggal [16]. Továbbá kimutatták, hogy a rákellenes kemoterápiában széles körben használatos fluorodeoxiuridinnel szembeni rezisztencia kialakulásáért a dUTPáz-aktivitás növelése lehet felelős [17], ami arra utal, hogy dUTPáz inhibitorokkal kiegészítve, a terápia eredményessége javítható lenne. Fentiek szerint tehát virális dUTPázok specifikus gátlása antivirális, míg a tumorsejtekben az enzim gátlása antitumor hatással bír [18,19].

A dUTPáz-antagonisták alkalmazásával a vírusfertőzött, illetve a neoplasztikus sejtekben a timinmentes sejtihal indukálható. Ez a mechanizmus hasonló több olyan, a klinikai gyakorlatban már használatos gyógyszer hatásmechanizmusához, melyek a dTTP-bioszintézist gátolják. A fluorodeoxiuridin a dTMP szintáz enzimet gátolja, míg a metotrexát a dTMP szintéziséhez szükséges metilkofaktor regenerálásáért felelős dihidrofolát redukáz enzim működését akadályozza. A dUTPáz antagonisták a dTTP-szintézis még korábbi lépését gátolják, ezért várható terápiás hasznuk legalábbis összemérhető lehet a másik két említett gyógyszerrel. A timinmentes sejtihal indukálása dUTPáz antago-

nizmus révén nem csupán beteg sejtek elpusztításában, de egy fontos élettani folyamatban is szerepet játszhat [20]. Nevezetesen, a *Drosophila melanogaster* esetén kimutatták, hogy a korai lárvaállapotokban egy olyan fehérje expresszálódik, mely dUTPáz-gátló hatása [21]. Az ecetmuslicában ez a dUTPáz kontroll az enzim bioszintézisének fejlődésbiológiai ellenőrzéséhez [22] adódva valószínűleg elősegíti a bábozódás során pusztulásra ítélt sejt populáció programozott sejtihalát. Egyik fő célunk ezen folyamat vizsgálata.

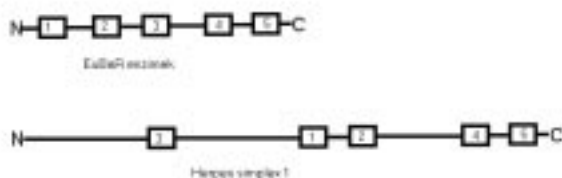
Végül röviden megemlíjtük egyes onkogén retrovírusok különleges dUTPázait. A B és D típusú retrovírusokban (pl. egéremlőtumor-vírus, Mason-Pfizer majomvírus) a dUTPáz gén a gag-pol genomrészek között a pro-pol határon helyezkedik el, közvetlenül a retrovirális nukleokapszid fehérje génjét követően, ám attól eltérő leolvasási keretben [23]. Keretugrás (*frame-shift*) révén íródik át a dUTPáz, mégpedig a nukleokapszid fehérjével kovalens kapcsolatban (NC-dUTPáz bifunkciós fehérje) [24,25]. Ismert, hogy a nukleokapszid fehérje fontos a virális genom becsomagolásában (genom dajkafehérje), továbbá jelentős szerepe van a reverz transzkripció folyamata során a nukleinsavakkal való kölcsönhatásban [26,27]. Feltételezhető, hogy a dUTPáz enzim kovalens kapcsolódása a nukleokapszid régióhoz lehetővé teszi az enzimaktivitás nukleinsavakhoz való lehorgonyzását, így az aktivitás adekvát lokalizációját. Ugyanakkor a dUTPáz trimer szerkezete esetleg további szervező potenciált jelenthet a nukleokapszid régióknak a genom chaperon funkciójában. A hipotézis vizsgálata csoportunkban folyamatban van. Más retrovírusokban (pl. lentivírusok) a dUTPáz gén a nukleokapszid géntől távolabb található, ami kizárja hasonló bifunkciós fehérje létrejöttét, és arra utal, hogy a különböző retrovírusok más és más evolúciós úton tettek szert dUTPázaira [13,28].

dUTPáz szerkezetek: egyedülálló alegység-kölcsönhatások az aktív centrum kialakításában

Szekvenciaelemzések alapján tíz éve ismert, hogy minden igazoltan dUTPáz aktivitással rendelkező fehérjében öt konzervált szekvenciamotívum található [29]. Érdekes módon a motívumok sorrendje az emlős gazdaszervezetek herpeszvírusainak dUTPáza

* Hely hiányában nem térünk ki rá, ám az olvasónak figyelmébe ajánljuk ezen a ponton a restriktív metilázok problémáját (citozin metilézést követő spontán deaminálása timint ad). A metilcímke jó ötlet, ám több helyen alkalmazva visszaüthet, itt egy újabb javítómechanizmust („*mismatch repair*”) tesz szükségessé.

esetén eltér a többi fajra jellemzőktől (3. ábra). Ugyanakkor alacsonyabb rendű gerincesek (pl. halak) herpeszvírus dUTPázai a szokványos általános rendeződést követik [30]. További fontos különbség, hogy míg az EuBaR csoport dUTPázai kivétel nélkül homotrimeriek, addig az emlős herpeszvírus dUTPázok monomerek [31]. Ez utóbbi esetben egyelőre nincsenek szerkezeti adatok, így a továbbiakban az EuBaR dUTPázokkal foglalkozunk.



3. ábra A dUTPáz szekvenciamotívumok. Az öt szekvenciamotívum a legtöbb fajból származó enzim esetén egymást követő módon helyezkedik el (felső ábra, EuBaR = eukarióta, bakteriális és retrovirális fajok). A motívumok sorrendje megváltozik a HSV 1 és más, emlősöket fertőző herpeszvírusok dUTPáza esetén, melyek esetleg génduplikációval jöhettek létre egy ősi EuBaR szekvenciából. Legalábbis erre utal az a tény, hogy a HSV 1 dUTPáz durván kétszer akkora fehérje, mint a humán enzim.

Nagy feloldású kristályszerkezetek alapján részletesen ismerjük az EuBaR csoportba tartozó dUTPázok fehérjeszerkezetét [32–35]. Ezeket a kristályszerkezeti adatokat felhasználva, modellezéssel írtuk le a *Drosophila melanogaster* dUTPázának szerkezetét (4. ábra a címlapon [36]). Jóllehet ezek az enzimek fehérjeszekvenciájuk tekintetében az öt viszonylag rövid szekvenciamotívum kivételével nem mutatnak nagymértékű hasonlóságot, szerkezetük mégis jól fedésbe hozható (a gerincatomokra számított r.m.s. értékek 0,5–1,1 Å körüliek). Így a további általános ismertetéshez jól használható a *Drosophila* szerkezeti modell (4. ábra). Az alegységek másodlagos szerkezeti elemei túlnyomó részükben β -szálak, melyek antiparallel módon ún. lekvárostekercsbe szerveződnek. A kedves olvasó ezt a közkedvelt süteményt piskótarolád néven is ismerheti, a fehérjeszerkezetben a piskótarétegeknek az egyes β -szálak felelnek meg, az összetartó lekvár (dekadens verzió: csokoládékrém) ragasztó szerepét a két β -szál közötti hidrogénhidak jelentik.

4. ábra (lásd a címlapon) *Drosophila melanogaster* dUTPáz szerkezete. A homotrimer enzim különböző alegységei eltérő színben láthatók, a másodlagos szerkezeti elemek kiemelésével. A szubsztrátanalóg dUDP térkitöltő modellje az atomok standard kódja szerint színezett (fehér: szén, piros:

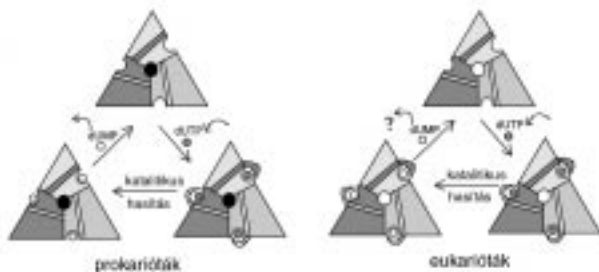
oxigén, kék: nitrogén, narancssárga: foszfor). Az aktív centrumok az alegységek közötti felszíneken alakulnak ki oly módon, hogy két alegység között helyet foglaló ligandum koordinálásában fontos szerepet vállal a harmadik alegység C-terminális szegmense, mely a ligandum felé hajolva mintegy lezárja az aktív centrumot. (Fiser és Vértessy (2000) Biochim. Biophys. Res. Comm., sajtó alatt).

Az EuBaR dUTPázok homotrimerjeiben a harmadlagos és a negyedleges szerveződés nem választható el, mert az egyik alegység lekvárostekercsének egyik β -szála a szomszédos alegységből származik. Ez a szerveződés rendkívül nagymértékű stabilitást biztosít a dUTPáz trimernek. A stabilitás a virionban is megtalálható nukleokapszid-dUTPázok esetén segítheti a fehérje szerkezeti szerepvállalását.

A negyedleges szerkezet különlegessége mellett további érdekesség az aktív centrum kialakítása. A trimer enzimből három szimmetrikusan létrejövő aktív centrum van, és mindegyik aktív centrum felépítéséhez mind a három alegység hozzájárul. Ez a szerveződési forma tudomásunk szerint egyedülálló. Az aktív centrum lokalizálása a 3. konzervált szekvenciamotívumbeli tirozin oldallánc helyspecifikus módosításával vált először lehetségessé [37,38]. A későbbi kristályszerkezetek alapján kiderült, hogy ez a tirozin oldallánc az uracilgyűrűt koordináló β -hajtú alján foglal helyet, átlapol a deoxiribóz gyűrűvel, és sztérikusan kizárja ribonukleotidok kötődését. Az uracilgyűrű koordinálásához a β -hajtú hidrofób oldallancai apoláros mikro környezetet alakítanak ki. A gyűrű funkciós csoportjaival a β -szálak gerincatomjai hoznak létre hidrogénhidakat, a DNS-ben előforduló bázispárosodás mintájára. Ez az elrendezés nem komplementer a citozin bázissal, míg a timin kizárásáért sztérikus gát felel (a timin 5-metilcsoportja ütközne a β -hajtú falával). A szűk, testre (illetve dUTP-re) szabott aktív centrumba a puringyűrűs bázisok nem férnek be. A nagymértékű specificitás (K_M : 10^{-6} – 10^{-7} M) különösen azért fontos, hogy megakadályozza más nagy energiájú foszfátartalmú nukleotidok hiábavaló hidrolízisét.

A szubsztrát foszfátláncának megkötéséért egy másik monomerhez tartozó 2. és 4., továbbá a harmadik monomerhez tartozó 5. szekvenciamotívum együttesen felelős, konzervált bázikus oldallancaik elektrosztatikus kölcsönhatások révén koordinálják a foszfátokat. A legújabb kristályszerkezet alapján feltételezhető, hogy a katalitikus reakció során a foszfátcsoportok koordinálása nagymértékben megváltozik, adaptív módon járulva hozzá a katalízishez [35]. Külön jelentőséggel bír a katali-

tikus ciklusban az 5. motívum konformációváltozása. Ez a szegmens a legtöbb kristályszerkezetben nem lokalizálható, flexibilitásáért magas glicintartalma felelős. Konszenzus szekvenciája (RGxxGFG(S/H)(T/S)G) limitált hasonlóságokat mutat más nukleotidkötő fehérjék foszfáthurkával (*P-loop* motívum). Oldatfázisban a katalitikus ciklus során valószínűleg bekövetkező konformációváltozásokat cirkuláris dikroizmus spektroszkópiával követve és kimutatva, hogy az 5. motívumban csonkolt enzim katalitikus aktivitása nagymértékben csökken, sikerült felírunk a katalikus ciklus modelljét az *E. coli* enzimjére [39,40 és az utóbbi közlemény címlapábrája]. Eszerint a nukleotid ligandum teljes trifoszfátlánca szükséges a C-terminális 5. motívum rendeződéséhez, mely ekkor az aktív centrum fölé hajol, és zárt konformációt hoz létre. A katalikus reakció végbemenetele után a C-terminális visszanyeri flexibilitását, az aktív centrum kinyílik (nyitott konformer), elősegítve ezzel a termék távozását.



5. ábra A dUTPáz enzim katalitikus ciklusa eu- és prokariótákban eltérő lehet [36]. A katalitikus reakcióhoz szükséges zárt konformáció az *E. coli* enzimjénél a hidrolízist követően kinyílik, lehetővé téve a termék távozását. A humán enzim megtartja a zárt konformációt a hidrolízist követően, így a termék távozása egyelőre nem érhető (kérdőjel). A funkcionális eltérés oka a trimer enzim alegységei közti különböző kommunikáció lehet (hidrofób fekete, illetve poláros fehér központi mag).

Ez a mechanizmus a kristályszerkezetek alapján valószínűleg hasonló más prokarióta enzimek és a retrovirális enzimek esetén. A humán enzimnél azonban kristályszerkezeti adatok [32] arra utaltak, hogy a termék dUMP jelenlétében is rögzült a zárt konformer. Itt kérdéses egyelőre tehát a termék távozásának mechanizmusa, esetleg allosztérikus viselkedés tételezhető fel (egyik aktív centrum zárul, másik nyílik). Az eltérő viselkedés oka elsősorban a különböző jellegű alegység-kölcsönhatásokban keresendő. Megmutattuk, hogy a trimer enzim központi csatornája a humán, és minden más eukarióta enzim esetén valószínűleg poláros,

míg a bakteriális és retrovirális enzimeknél apoláros [36]. Szerkezetelemző vizsgálataink alapján a pro- és eukarióta dUTPázok közötti különbséget mutatja be a 5. ábra. A továbbiakban egyik fő célunk, hogy a szerkezetelemzést kinetikai és ligandumkötési vizsgálatokkal kiegészítve jellemezzük a dUTPázok funkcionális evolúcióját.

Irodalomjegyzék

- [1] Lindahl, T. (1993) *Nature*, 362: 709-715.
- [2] Mosbaugh, D. W., Bennett, S. E. (1994) *Prog. Nucleic. Acid Res. Mol. Biol.*, 48: 315-370.
- [3] Weiss, B., El-Hajj, H. H. (1986) In: Mechanism of DNA Damage and Repair (Simic, M. G., Grossman, L., Upton, A. C., Eds.), (Plenum Press, New York) pp. 349-356.
- [4] Pearl, L. H., Savva, R. (1996) *Nat. Struct. Biol.*, 3: 485-487.
- [5] Blount, B. C., Mack, M. M., Wehr, C. M., MacGregor, J. T., Hiatt, R. A., Wang, G., Wickramasinghe, S. N., Everson, R. B., Ames, B. N. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 94: 3290-3295.
- [6] Vassylyev, D. G., Morikawa, K. (1996) *Structure*, 4: 1381-1385.
- [7] Goulian, M., Bleile, B., Tseng, B. Y. (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77: 1956-1960.
- [8] Tye, B. K., Lehman, I. R. (1977) *J. Mol. Biol.*, 117: 293-306.
- [9] Tye, B. K., Nyman, P. O., Lehman, I. R., Hochhauser, S., Weiss, B. (1977) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 74: 154-157.
- [10] Seeberg, E., Eide, L., Bjoras, M. (1995) *Trends Biochem. Sci.*, 20: 391-397.
- [11] Gadsden, M. H., McIntosh, E. M., Game, J. C., Wilson, P. J., Haynes, R. H. (1993) *Embo J.*, 12: 4425-4431.
- [12] el-Hajj, H. H., Zhang, H., Weiss, B. (1988) *J. Bacteriol.*, 170: 1069-1075.
- [13] Baldo, A. M., McClure, M. A. (1999) *J. Virol.*, 73: 7710-7721.
- [14] Pyles, R. B., Sawtell, N. M., Thompson, R. L. (1992) *J. Virol.*, 66: 6706-6713.
- [15] Threadgill, D. S., Steagall, W. K., Flaherty, M. T., Fuller, F. J., Perry, S. T., Rushlow, K. E., Le Grice, S. F., Payne, S. L. (1993) *J. Virol.*, 67: 2592-2600.
- [16] Zalud, P., Wachs, W. O., Nyman, P. O., Zeppezauer, M. M. (1994) *Adv. Exp. Med. Biol.*, 370: 135-138.
- [17] Canman, C. E., Radany, E. H., Parsels, L. A., Davis, M. A., Lawrence, T. S., Maybaum, J. (1994) *Cancer Res.*, 54: 2296-2298.
- [18] Ladner, R. D., Lynch, F. J., Groshen, S., Xiong, Y. P., Sherrod, A., Caradonna, S. J., Stoehlmacher, J., Lenz, H. J. (2000) *Cancer Res.*, 60: 3493-3503.
- [19] Webley, S. D., Hardcastle, A., Ladner, R. D., Jackman, A. L., Aherne, G. W. (2000) *Br. J. Cancer*, 83: 792-799.
- [20] Deutsch, W. A. (1995) *Insect Mol. Biol.*, 4: 1-5.
- [21] Nation, M. D., Guzder, S. N., Giroir, L. E., Deutsch, W. A. (1989) *Biochem. J.*, 259: 593-596.
- [22] Giroir, L. E., Deutsch, W. A. (1987) *J. Biol. Chem.*, 262: 130-134.
- [23] Hizi, A., Henderson, L. E., Copeland, T. D., Sowder, R. C., Hixson, C. V., Oroszlan, S. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 84: 7041-7045.
- [24] Koppe, B., Menendez-Arias, L., Oroszlan, S. (1994) *J. Virol.*, 68: 2313-2319.
- [25] Bergman, A. C., Bjornberg, O., Nord, J., Nyman, P. O., Rosengren, A. M. (1994) *Virology*, 204: 420-424.
- [26] Lapadat-Tapolsky, M., De Rocquigny, H., Van Gent, D., Roques, B., Plasterk, R., Darlix, J. L. (1993) *Nucleic Acids Res.*, 21: 831-839.
- [27] Ottmann, M., Gabus, C., Darlix, J.-L. (1995) *J. Virol.*, 69: 1778-1784.
- [28] Elder, J. H., Lerner, D. L., Hasselkus-Light, C. S., Fontenot, D. J., Hunter, E., Luciw, P. A., Montelaro, R. C., Phillips, T. R. (1992) *J. Virol.*, 66: 1791-1794.
- [29] McGeoch, D. J. (1990) *Nucleic Acids Res.*, 18: 4105-4110.
- [30] Davison, A. J. (1992) *Virology*, 186: 9-14.
- [31] Bjornberg, O., Bergman, A. C., Rosengren, A. M., Persson, R., Lehman, I. R., Nyman, P. O. (1993) *Protein Expr. Purif.*, 4: 149-159.
- [32] Mol, C. D., Harris, J. M., McIntosh, E. M., Tainer, J. A. (1996) *Structure*, 4: 1077-1092.
- [33] Larsson, G., Svensson, L. A., and Nyman, P. O. (1996) *Nat. Struct. Biol.*, 3: 532-538.
- [34] Dauter, Z., Persson, R., Rosengren, A. M., Nyman, P. O., Wilson, K. S., Cedergren-Zeppezauer, E. S. (1999) *J. Mol. Biol.*, 285: 655-673.
- [35] Prasad, G. S., Stura, E. A., Elder, J. H., Stout, C. D. (2000) *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, 56: 1100-1109.
- [36] Fiser, A., Vertessy, B. G. (2000) *BBRC*, in press
- [37] Vertessy, B. G., Zalud, P., Nyman, P. O., Zeppezauer, M. (1994) *Biochim. Biophys. Acta*, 1205: 146-150.
- [38] Vertessy, B. G., Persson, R., Rosengren, A. M., Zeppezauer, M., Nyman, P. O. (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 219: 294-300.
- [39] Vertessy, B. G. (1997) *Proteins*, 28: 568-579.
- [40] Vertessy, B. G., Larsson, G., Persson, T., Bergman, A. C., Persson, R., Nyman, P. O. (1998) *FEBS Lett.*, 421: 83-88.

ACTIVIT **hirdetés**

Új módszer a bakteriális eredetű fehérje mennyiségi meghatározására a *D*-aszparaginsav- és a *D*-glutaminsav-tartalom alapján

A new method for the quantitative determination of proteins of bacterial origin on the basis of *D*-aspartic acid and *D*-glutamic acid content

Csapó János¹, Schmidt János², Csapóné Kiss Zsuzsanna¹

¹ Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar
Kaposvár, 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.
E-mail: csapo@atk.kaposvar.pate.hu

² Nyugat-Magyarországi Egyetem,
Mezőgazdaságtudományi Kar Mosonmagyaróvár,
9200 Mosonmagyaróvár, Vár 2.

Összefoglalás

Az elmúlt években több módszert dolgoztak ki a bendőből az oltóba, illetve vékonybélbe jutó nitrogéntartalmú anyagok mikrobiális eredetű részének meghatározására. Élelmiszerek, különösen tej és tejtermékek *D*-aminosavtartalmát vizsgálva megfigyeltük, hogy a *D*-Ala mellett hasonló mennyiségben *D*-glutaminsavat (*D*-Glu) és *D*-aszparaginsavat (*D*-Asp) is ki lehet mutatni főként azon termékekből, melyek bakteriális tevékenységgel hozhatók kapcsolatba. Ez adta az ötletet, hogy vizsgáljuk meg a szarvasmarhák bendőjéből kinyert baktériumok, és ugyanazon szarvasmarhák chymusának DAPA-, *D*-Glu- és *D*-Asp-tartalmát, vajon milyen összefüggés van e három komponens között, és hogy a *D*-Asp és *D*-Glu használható-e a bakteriális eredetű fehérje becslésére. Meghatározva öt növendék bika duodenális chymusának, valamint az ugyanezekről a bikáktól származó bendőbaktériumok DAPA-, *D*-Asp- és *D*-Glu-tartalmát aminosavanalízissel, ill. nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával megállapítottuk, hogy *r* lineáris regresszióval számított értéke a chymus (és a bendőbaktérium) esetében a DAPA és a *D*-Asp között 0,78 (0,76), a DAPA és a *D*-Glu között pedig 0,70 (0,81) volt. A bendőbaktériumok nyersfehérje-tartalma és a vizsgált markerek közötti *r* értékek a következők voltak: DAPA: 0,74; *D*-Asp: 0,73; *D*-Glu: 0,61. A bakteriális eredetű fehérje visszanyerésére végzett modellkísérletben a *D*-Asp és *D*-Glu alapján az elméleti értéket, DAPA alapján pedig annál mintegy 10%-kal többet kaptunk. Javasoljuk, hogy a DAPA mellett a két *D*-aminosavat is vonják be a bakteriális fehérje markerei közé.

Csapó, J.¹, Schmidt, J.², Csapóné Kiss Zs.¹

¹ University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, H-7400 Kaposvár, Guba S. u. 40. Hungary. E-mail: csapo@atk.kaposvar.pate.hu

² West-Hungarian University, Faculty of Agricultural Science, H-9200 Mosonmagyaróvár, Vár 2. Hungary

Summary

In the past years several methods have been developed for the determination of the proportion of nitrogen-containing substances of microbial origin passed from the rumen into the abomasum or the small intestine. On examining the *D*-amino acid content of foodstuffs, particularly milk and milk products, it has been observed that, in addition to *D*-Ala, *D*-glutamic acid (*D*-Glu) and *D*-aspartic acid (*D*-Asp) can also be detected in similar quantities, primarily in products linked with bacterial activity. This gave rise to the idea of examining the DAPA, *D*-Glu and *D*-Asp content of bacteria extracted from the rumen of cattle and that of chyme from the same cattle to determine the type of relation among these components, and to establish whether *D*-Asp and *D*-Glu can be used to estimate of proteins of bacterial origin. On determination of the DAPA, *D*-Asp and *D*-Glu content by amino acid analysis and high performance liquid chromatography of duodenal chyme and of ruminal bacteria from five growing bulls, the following values were established. For chyme (and, in brackets, for ruminal bacteria) *r* values calculated by linear regression were 0.78 (0.76) between DAPA and *D*-Asp, and 0.70 (0.81) between DAPA and *D*-Glu. The *r* values between the crude protein content of ruminal bacteria and the markers examined were found to be the following: DAPA, 0.74; *D*-Asp, 0.73; *D*-Glu, 0.61. In the model experiment performed for the re-obtaining of values for protein of bacterial origin the theoretical values were determined on the basis of *D*-Asp and *D*-Glu and values approximately 10% higher than the theoretical value on the basis of DAPA. It is therefore recommended that in addition to DAPA these other two amino acids be included among the bacterial protein markers.

Bevezetés

A szarvasmarha takarmányozásában az utóbbi évtizedben számos országban bevezetett új fehérjeértékelési rendszerek közös vonása, hogy a takarmányok fehérjetartalmát a belőlük a vékonybélben felszívódó aminosavak mennyisége alapján bírálják el. A felszívódó aminosavmennyiséget a csak kis hányadot kitevő endogén aminosavak mellett döntően két aminosavforrás, nevezetesen a bendőben szintetizálódó mikrobafehérje, valamint a takarmány fehérjéjének bendőben le nem bomló (*by-pass*) hányada határozza meg. A bendőben a takarmány fehérjetartalmának átlagosan 70%-a aminosavakra bomlik le, mely aminosavak vagy mikrobafehérje szintézisre használnak fel, vagy tovább bomlanak, és ammóniát szolgáltatnak a mikrobáknak testfehérjék felépítésére. A bendőben termelődő mikrobafehérje mennyiségének ismerete azért is fontos, mert csak ennek révén tudjuk a takarmányfehérje *by-pass* hányadát megállapítani. Ehhez szükséges, hogy a duodenális chymusban szét tudjuk választani a mikrobiális fehérjét a takarmány *by-pass* hányadától, valamint az endogén eredetű fehérjétől. Ez csak akkor lehetséges, ha találunk a fehérjében olyan komponenseket, amelyek csak a mikrobafehérjére jellemzőek. Az elmúlt években több módszert dolgoztak ki a bendőből az oltóba/vékonybélbe jutó nitrogéntartalmú anyagok mikrobiális eredetű részének meghatározására. Próbálkoztak a nukleinsavak meghatározásával, a B₁₂-vitamin és a ³⁵S izotóp nyomon követésével becsülni a nitrogéntartalmú anyagok mikrobiális eredetű részét [1]. Mások [2–5] a 2-6-diamino-pimelinsav

(DAPA) mérésével a bakteriális eredetű nitrogéntartalomra tudtak következtetni, a DAPA ugyanis kizárólag csak a baktériumok sejtfalában lévő peptidoglikánokban fordul elő. Felfedezték [3, 5–7] azt is, hogy a DAPA mellett a *D*-alanin (*D*-Ala) is a baktériumok sejtfalában lévő peptidoglikánokban fordul elő, így ez a vegyület is jól használható a baktérium eredetű fehérje jelzésére és mennyiségi meghatározására. A DAPA meghatározására bendőfolyadékából, illetve bétartalomából többféle módszerrel is kísérleteztek [2,3,8–10], melyek közül az automatikus aminosavanalizátorral történő meghatározásnak van a legnagyobb jelentősége.

A szakirodalmi adatokat elemezve úgy tűnik, hogy a DAPA analitikája megoldott: nyomnyi mennyiségben előforduló DAPA-t is meg lehet határozni. Mi készített bennünket arra, hogy a *D*-aminosavak meghatározásával foglalkozzunk, illetve keressünk még más olyan markereket, melyek segítségével a bakteriális eredetű fehérje mennyisége meghatározható? Élelmiszerek, különösen tej és tejtermékek [11,12] *D*-aminosav-tartalmát vizsgálva azt figyeltük meg, hogy a *D*-Ala mellett hozzá hasonló mennyiségben *D*-glutaminsavat (*D*-Glu) és *D*-aszparaginsavat (*D*-Asp) is ki lehet mutatni elsősorban a bakteriális tevékenységgel kapcsolatba hozható termékekből. Ez adta az ötletet arra vonatkozóan, hogy vizsgáljuk meg a szarvasmarhák bendőjéből kinyert baktériumok, és ugyanazon szarvasmarhák chymusának DAPA-, *D*-Asp- és *D*-Glu-tartalmát vizsgálva azt, hogy milyen összefüggés van e három komponens között, és hogy vajon a *D*-Asp és *D*-Glu használható-e a bakteriális eredetű fehérje mennyiségének becsülésére.



Csapó János a Kaposvári Egyetem kaposvári Állattudományi Karának egyetemi tanára, a MTA doktora, a Biokémiai és Élelmiszerkémiai Tanszék vezetője, valamint a Kémiai Intézet igazgatója. Kutatási területe: gazdasági állatok kolosztrum- és tejösszetételének meghatározása, valamint élelmiszer- és takarmányanalitikai módszerek fejlesztése. 1974 óta foglalkozik aminosavanalízissel, 1986 óta a *D*- és *L*-aminosavak szétválasztásával és meghatározásával.

Schmidt János a Nyugat-Magyarországi Egyetem mosonmagyaróvári Mezőgazdaságtudományi Karának egyetemi tanára, a MTA doktora. Kutatási területe a gazdasági állatok takarmányozása, elsősorban a gazdasági állatok fehérjeforgalmával, fehérje- és aminosavszükségletének megállapításával, a bendőben csak kismértékben lebomló *by-pass* készítmények kifejlesztésével foglalkozik.

Csapóné Kiss Zsuzsanna, a Kaposvári Egyetem kaposvári Állattudományi Karának tudományos munkatársa, egyetemi doktor. Kutatási területe az élelmiszer- és takarmányanalízis, mely tématerületen belül elsősorban gazdasági állatok asványi anyag-forgalmával, azok ásványianyag-szükségletének megállapításával foglalkozik.



Az állatkísérlet metodikája: A vizsgált chymus és bendőbaktérium-minták öt, bendő- és duodenum-fisztulával ellátott 480–500 kg testtömegű magyar-tarka holstein fríz keresztezésből származó növénydek bikával végzett két kísérletből származtak. A kísérletekben különböző takarmányok fehérjéjének bendőbeli lebonthatóságát, továbbá különféle adalékanyagoknak a fehérjék bendőbeli degradabilitására gyakorolt hatását kívántuk megállapítani. Mindkét kísérlet tíznapos előtetetési és négy napos kísérleti szakaszból állt. A kísérleti szakaszokban más-más takarmány fehérjéjének a lebonthatóságát, illetve más adalékanyagoknak a lebonthatóságára gyakorolt hatását vizsgáltuk. A kísérleti szakaszok 1. és 4. napján 6 és 16 óra között kétóránként összesen hat mintát vettünk a fisztulán át a duodenális chymusból. A vizsgált chymusmintákat ezekből a részmintákból alakítottuk ki. A duodenumon áthaladó chymus mennyiségét az abraktakarmányhoz kevert TiO_2 jelzőanyag segítségével állapítottuk meg. Hogy a bendőbaktériumok DAPA-, D-Asp- és D-Glu-tartalmát meg tudjuk állapítani, a kísérleti szakasz 2. napján a reggeli etetést követő három óra múlva a bendőfisztulán át bendőfolyadék-mintát vettünk az állatoktól.

A minták előkészítése kémiai vizsgálatra: A minta-előkészítés során a bendőfolyadékot a takarmányrészecskék és az infuzóriumok elkülönítésére centrifugáltuk (3000/perc). Ezt követően a folyadékfázis centrifugálásával (16.000/perc) elkülönítettük a baktériummasszát, melyet liofilezéssel megszártottunk. A duodenumból vett chymusminták aliquot részét szintén liofileztük.

A minták kémiai analízise: A DAPA-tartalmat Aminochrom-II ill. LKB 4101 típusú aminosavanalizátorral [3] határoztuk meg a fehérje perhangyasavas oxidációját követő, 0,1% fenolt tartalmazó 6 M sósavval 24 órán át tartó hidrolízis után. A D-Asp és a D-Glu meghatározása előtt a fehérjét 170 °C-on 30 percig hidrolizáltuk 6 M sósavval a lehető legkisebb racemizáció elérése miatt; az enantiomereket nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával (LaChrom Hitachi Merck HPLC) választottuk szét és határoztuk meg, *o*-ftálaldehiddel és a 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- β -glükopiranoziddal végzett származékképzés után [13]. Az enantiomerek elválasztását fordított fázisú (250x4,6 mm belső átmérő, 5 μm részecskeméret, Kromasil oktil (C8) töltet) analitikai oszlopon végeztük. Az enantiomereket két-

komponensű gradiensrendszerben választottuk szét (A=40% metanol foszfát pufferben (9,5 mM, pH=7,05); B=acetonitril, áramlási sebesség: 1 ml/perc).

Eredmények és következtetések

Az I. táblázat a lineáris regresszió eredményét mutatja a chymus- és a bendőbaktérium-minták esetében, a II. táblázat pedig a bendőbaktériumok és a chymus nyersfehérje-tartalma, valamint a D-Asp, a DAPA és a D-Glu közötti összefüggést mutatja ugyanezen mintákra. Mind a chymus-, mind a bendőbaktérium-mintákat elemezve igen szoros összefüggést kaptunk a DAPA- és a D-Asp-, valamint a DAPA- és a D-Glu-tartalom között. Az *r* érték a chymus DAPA- és D-Glu-tartalma közti összefüggést vizsgálva volt a legkisebb (0,70-del), és a bendőbaktériumok esetében a DAPA–D-Glu vonatkozásában volt a legnagyobb (0,81). Még szorosabb összefüggést kaptunk mind a chymus ($r=0,95$), mind a bendőbaktérium ($r=0,83$) esetében, amikor a D-Asp és a D-Glu közötti összefüggést vizsgáltuk.

A DAPA és a D-Asp, a DAPA és a D-Glu, valamint a két D-aminosav (D-Asp és D-Glu) közötti igen szoros összefüggés felbátorított bennünket arra, hogy további vizsgálatokat végezzünk, vajon a két D-aminosav milyen markere lehetne a bakteriális eredetű fehérjének, illetve milyen összefüggés van a bakteriális markerek és a nyersfehérje-tartalom között. A II. táblázat adatai mutatják, hogy a bendőbaktériumok esetében a legszorosabb összefüggést a DAPA- és a nyersfehérje-tartalom között kaptuk ($r=0,74$); alig volt kisebb az *r* értéke a D-Asp- és a nyersfehérje-tartalom között ($r=0,73$), míg a D-Glu és a nyersfehérje-tartalom közötti kapcsolat szorosága ($r=0,61$) mindkettőtől némileg elmarad.

A II. táblázatban szereplő lineáris regressziós paraméterek felhasználásával a bendőbaktériumok nyersfehérje-tartalmára a D-Asp alapján számolva 49,05%-ot, a DAPA alapján 49,26%-ot, a D-Glu alapján pedig 49,96%-ot kaptunk. A bendőbaktériumok nyersfehérje-tartalmának átlaga 49,50%.

Ezt követően kiszámoltuk az általunk alkalmazott módszerrel nyert bendőbaktériumok DAPA-, D-Asp- és D-Glu-tartalmát melyekre rendre 0,606%, 0,740% és 0,999% értéket kaptunk. Eredményeinket a szakirodalom tükrében a D-Asp és a D-Glu esetében értékelni nem tudjuk, mert tudomásunk szerint a baktériumfehérje ezen komponenseit más még nem vizsgálta. A DAPA-ra kapott 0,606% kevesebb a

I. táblázat A lineáris regresszió paramétereit és statisztikai jellemzőit a chymus és a bendőbaktériumok esetében a DAPA-D-Asp, a DAPA-D-Glu és a D-Asp-D-Glu vonatkozásában ($Y=A+B \cdot X$)

Paraméter, statisztikai jellemző	Chymus			Bendőbaktérium		
	DAPA-D-Asp	DAPA-D-Glu	D-Asp-D-Glu	DAPA-D-Asp	DAPA-D-Glu	D-Asp-D-Glu
N	34	34	34	17	17	17
R	0,78	0,70	0,95	0,76	0,81	0,84
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

II. táblázat A lineáris regresszió paramétereit és statisztikai jellemzőit a nyersfehérje és a DAPA, D-Asp és D-Glu között a bendőbaktériumok és a chymus esetében ($Y=A+B \cdot X$)

Paraméter, statisztikai jellemző	N y e r s f e h é r j e					
	Chymus			Bendőbaktérium		
	D-Asp	D-Glu	D-Glu	D-Asp	D-Glu	D-Glu
N	34	34	34	17	17	17
R	-0,08	-0,16	-0,04	0,73	0,74	0,61
P	0,6442	0,38112	0,83151	0,02181	0,00074	0,00881

III. táblázat Néhány példa a szorzófaktorok alkalmazására chymus minták bakteriális eredetű fehérjetartalmának meghatározásánál

A chymus minta	Analízis eredmények			A bakteriális eredetű fehérje, %		
	D-Asp %	DAPA %	D-Glu %	D-Asp	DAPA	D-Glu
1.	0,08546	0,07630	0,11513	11,54	12,59	11,67
2.	0,06681	0,05814	0,08935	9,03	9,59	9,06
3.	0,12546	0,11276	0,16415	16,96	18,61	16,64
4.	0,07402	0,06560	0,10342	10,01	10,82	10,49
5.	0,06519	0,05249	0,08644	8,81	8,66	8,77
6.	0,10546	0,09933	0,13637	14,26	16,38	13,83
7.	0,08564	0,07666	0,09952	11,58	12,64	10,09
8.	0,08671	0,07041	0,11865	11,72	11,61	12,03
9.	0,08591	0,08090	0,11730	11,61	13,34	11,89
10.	0,09230	0,08189	0,12402	12,48	13,50	12,58

IV. táblázat Modellkísérlet a bakteriális eredetű fehérje meghatározás pontosságának ellenőrzésére

1. minta (24,76% (számított) baktérium eredetű fehérjével)						
Párhuzamos mérések	Analízis eredmények			A bakteriális eredetű fehérje, %		
	D-Asp %	DAPA %	D-Glu %	D-Asp	DAPA	D-Glu
N	5	5	5	5	5	5
Átlag	0,1822	0,1612	0,2448	24,63	26,58	24,82
SD	0,0021	0,0038	0,0043	0,287	0,636	0,430
2. minta (4,952% (számított) baktérium eredetű fehérjével)						
N	5	5	5	5	5	5
Átlag	0,362	0,0336	0,0480	4,893	5,541	4,867
SD	0,0015	0,0022	0,0018	0,198	0,355	0,181

baktériumfehérjére közölt $1,0 \pm 0,25\%$ -nál [14], ami talán a kísérleti állataink által fogyasztott takarmányok eltérő minőségével magyarázható. Mivel vizsgálataink célja új bakteriális marker keresése volt, a relatív eltérés a DAPA-tartalomban az irodalmi adatokhoz viszonyítva a D-Asp-ra és D-Glu-ra kapott eredményeinket nem befolyásolja.

A bendőbaktériumok analízise után a nyersfehérje-tartalom ismeretében olyan szorzófaktorokat képeztünk, melyek segítségével egy ismeretlen mintában lévő fehérje bakteriális eredetű része a DAPA-, a D-Asp- és a D-Glu-tartalom alapján becsülhető. A szorzófaktor az aminosavtartalom reciproka, vagyis a DAPA, D-Asp és D-Glu esetében rendre 164,90, 135,17 és 101,40. Annak eldöntésére, hogy az általunk kapott szorzószámok a gyakorlatban hogyan használhatók, két kísérletet végeztünk. Az elsőben a különböző chymusmintákra kapott analízisadatokra alkalmaztuk a szorzófaktorokat. A kapott eredményeket a III. táblázat tartalmazza. A táblázat adataiból látható, hogy két eset kivételével a DAPA-tartalom alapján becsült értékek átlagosan 10%-kal nagyobbak, mint a D-Glu-, illetve D-Asp-tartalom alapján meghatározott mikrobafehérje-mennyiségek. Ez azzal magyarázható, hogy a bendőbaktériumok DAPA-tartalmát az irodalomban közöltekhez képest valamivel kisebbnek mértük. A D-Glu- és a D-Asp-tartalom alapján meghatározott fehérjetartalmakat összehasonlítva az egyezés azonnal látható; a legtöbb esetben a kapott értékek szinte egybeesnek.

A szorzófaktorok tesztelését célzó kísérlet második részében a rendelkezésünkre álló 17 liofilezett bendőbaktérium-mintából egy átlagmintát állítottunk elő, melynek nyersfehérje-tartalmát 49,5%-nak, DAPA-tartalmát 0,33%-nak, D-Asp-tartalmát 0,36%-nak, D-Glu tartalmát pedig 0,49%-nak mértük. A kalkulált szorzófaktorok alkalmazásával a nyersfehérje-tartalmat sor-

rendben 53,59; 49,13 és 49,88%-nak becsültük. Ezután marhahúsból liofilezéssel előállítottunk egy olyan húslisztet, melynek DAPA-tartalma nulla, *D*-Asp- és *D*-Glu-tartalma pedig (racemizáció tesztelése a fehérjehidrolízis során) – az általunk alkalmazott módszerrel hidrolizálva a fehérjét – 0,01% alatt volt mind a glutaminsavra, mind az aszparaginsavra vonatkozóan. Az első esetben 1 g húslisztet kevertünk 1 g baktériummintához, majd 5 párhuzamos méréssel meghatároztuk mind a DAPA-, mind a *D*-Asp- és *D*-Glu-tartalmat. Ezután 1 g baktériummintához 9 g húslisztet keverve végeztük el az analíziseket. Az eredményeket a IV. táblázat tartalmazza. A táblázat adataiból megállapítható, hogy a szórás százalékok a bakteriális fehérjét nagyobb mennyiségben tartalmazó 1. minta esetén minden esetben 5% alatt vannak, tehát az eredmények szórása megfelel egy megbízható analitikai módszer követelményeinek. A 2. minta esetében, ahol a bakteriális fehérje csak 20%-a az 1. mintáénak, a DAPA kivételével a szórás százalék minden esetben 5% alatt marad, míg a DAPA-nál azt némiképp meghaladja. Az analízis adatokból számolt nyersfehérje-tartalmakat hasonlítva a kalkulált értékhez megállapítható, hogy a DAPA-eredmények az 1. és a 2. mintánál is mintegy 10–15%-kal többet mérnek a várt értéknél, míg a *D*-Asp- és *D*-Glu-tartalom alapján kalkulált értékek a várt értékekkel gyakorlatilag egybeesnek.

Az elvégzett vizsgálatok bizonyítják, hogy mind a *D*-Asp, mind a *D*-Glu alkalmas lehet a bakteriális eredetű fehérje mérésére. A két új bakteriális marker alkalmazásával kapott eredmények mintegy 10%-kal kisebbek, mint amit a DAPA mérések kaptunk, ami nem a két új marker hibájának, hanem inkább a DAPA-meghatározás bizonytalanságának köszönhető. Ismert bakteriálisfehérje-tartalmú mintával végzett analízisek bizonyítják, hogy egyrészt a *D*-Asp és a *D*-Glu gyakorlatilag azonos baktériumfehérje-tartalmat, másrészt mindkettő az elméleti (kalkulált) értékhez nagyon közeli eredményt adott.

Milyen előnyei és milyen hátrányai vannak a DAPA és a *D*-Asp és *D*-Glu meghatározásnak a bakteriális eredetű fehérjemeghatározás szempontjából? A DAPA-meghatározásnál a perhangyasavas kezelés az előkészítést hosszadalmassá teszi. A perhangyasavas kezelés nélkül viszont a kis mennyiségben jelen lévő DAPA meghatározása az esetenként nagyságrenddel nagyobb koncentrációban je-

len lévő egyéb aminosavak miatt bizonytalan. A munkaigényesség mellett a DAPA-meghatározás még idő- és vegyszerigényes is, tehát meglehetősen drága. A DAPA analízisére ugyanakkor alkalmas az ioncserés oszlopkromatográfia elvén működő aminosavanalizátor, míg a *D*-aminosavak hagyományos elven működő aminosavanalizátorral nem választhatók el. A *D*-aminosavak mérésének másik problémája a fehérje hidrolízise alatt fellépő racemizáció, mely a vizsgálatok eredményeit meghamisíthatja, azaz a racemizációnak „köszönhetően” több *D*-Asp-at és *D*-Glu-at mérhetünk, amely alapján a bakteriális eredetű fehérje mennyiségét túlbecsüljük. Ennek kiküszöbölésére két módszert javasolunk. Egyrészt olyan hidrolízis módszert kell alkalmazni, melynek során a racemizáció csekély mértékű (ilyen pl. az általunk kidolgozott [15] magas hőmérsékleten, 160–170 °C, rövid ideig, 30–45 perc, végzett fehérjehidrolízis), másrészt az alkalmazni kívánt módszerrel meg kell határozni a bendőből nyert baktériumok *D*-Asp- és *D*-Glu-tartalmát, és hozzánk hasonlóan szorzófaktorokat kell képezni a bakteriális eredetű fehérje mennyiségének becslésére. Ez utóbbi esetben ugyanis a fehérjehidrolízis során fellépő racemizáció konstans hibának tekinthető mind a szorzófaktorok megállapítása során, mind a tényleges minták analízisének, és így a meghatározás pontosságát lényegesen nem befolyásolja. A módszer alkalmazása akkor terhelt a legkisebb hibával, ha egyrészt alacsony racemizációval járó fehérjehidrolízist használunk, másrészt az alkalmazott módszerrel meghatározzuk a szorzófaktorokat.

Irodalomjegyzék

- [1] Stern, M.D., Hoover, W.H. (1979) *J. Anim. Sci.*, **49**: 1590-1603.
- [2] Czerkawski, W.J. (1974) *J. Sci. Food. Agric.*, **25**: 45-55.
- [3] Csapó, J., Gombos, S., Henics, Z., Tóth, L.-né (1986) *Acta Alimentaria*, **15**: 159-167.
- [4] Csapó, J., Csapó-Kiss, Zs., Csordás, E., Martin, T.G., Folestad, S., Tivesten, A., Némethy, S. (1995) *Anal. Lett.*, **28**: 2049-2061.
- [5] Schleifer, K.H., Kandler, O. (1972) *Bacteriol. Rev.*, **36**: 407-477.
- [6] Garrett, I.E., Goodrich, R.D., Meiske, J.C. (1982) Protein requirements for cattle. Symposium. Oklahoma State University, MP-109.
- [7] Garrett, J.E., Goodrich, R.D., Meiske, J.C. (1987) *Can. J. Anim. Sci.*, **67**: 735-743.
- [8] Edols, R.W. (1985) *J. Chrom.*, **329**: 199-201.
- [9] Hutton, K., Bailey, F.J., Annison, E.E. (1971) *Br. J. Nutr.*, **15**: 165-173.
- [10] Pongor, S., Baintner, K. (1980) *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.*, **15**: 1-4.
- [11] Csapó, J., Martin, T.G., Csapó-Kiss, Zs., Stefler, J., Némethy, S. (1995) *J. Dairy Sci.*, **78**: 2375-2381.
- [12] Csapó, J., Csapó-Kiss, Zs., Csordás, E., Fox, P.F., Wágner, L., Tálos, T. (1997) *Tejipar*, **57**: 25-30.
- [13] Einarsson, S., Folestad, S., Josefsson, B. (1987) *J. Liquid Chrom.*, **10**: 1589-1598.
- [14] Orskov, O.R. (1982) Protein Nutrition in Ruminants. Academic Press. London.
- [15] Csapó, J., Csapó-Kiss, Zs., Folestad, S., Tivesten, A., Némethy, S., Wágner, L., Tálos, T., Martin, T.G. (1997) *Anal. Chim. Acta*, **339**: 99-107.

A HPLC atyja 70 éves

A természettudományok területén az elmúlt évtizedekben tapasztalt rendkívül intenzív fejlődés elképzelhetetlen lenne az elválasztástudományok (kromatográfia, elektroforézis stb. változatai) fejlődése nélkül, összhangban a kromatográfia megalapítójának, Mihail Cvetnek híres, század elejéről származó kijelentésével avagy jövendölésével: „Minden tudományos haladás a módszerben tett haladás”.

Különösen nagy haladást jelentett az elválasztástudományok területén a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (angol nevének kezdőbetűivel: HPLC) kifejlesztése, mely – szemben az addig vezető technológiaként ismert gázkromatográfiával – lehetővé tette a nem illó vegyületek gyors és érzékeny analizisét, a kis molekulatömegű gyógyhatású vegyületektől a bonyolult szerkezetű biopolimerekig. E mára nélkülözhetetlen technika alapkészülékének kifejlesztésére tett javaslat, a technika alapjainak kidolgozása és leírása *Horváth Csaba professzor* nevéhez fűződik, aki 1930. január 25-én született Szolnokon. Egyetemi tanulmányait a Budapesti



Horváth Csaba professzor összefoglaló előadása a Magyar Elválasztástudományi Társaság – a professzor tiszteletére szervezett – ünnepi ülésén

Műszaki Egyetemen dolgozott majd emigrált Halász István professzor segítségével befejezte PhD-dolgozatát. A fokozat megszerzése után Rómában megnősült, s feleségével utóbb az Amerikai Egyesült Államokba költöztek.

Az USA-ban először kutatói állást sikerült betöltenie a Harvard Orvosi Egyetem Fizikai Kutató Laboratóriumában, ahol a biokémikus és biológus kollégák – intenzív diszkussziók keretében – megértették vele, hogy az élettudományok területén a

Műszaki Egyetem Vegyészmérnöki Karán kezdte és fejezte be, majd az egyetem Szerves Kémiai Technológia Tanszékén helyezkedett el. Az 1956-os forradalom és szabadságharc eltiprása után elhagyta szülőhazáját, s Nyugat-Németországban telepedett le, ahol a Hoechst cégnél kapott állást. A korábban ugyancsak a

megoldatlan feladatok sora módszertani előrelépést igényel. Ehhez az első lépés a később HPLC-nek nevezett készülék építésére tett javaslat volt, aminek realizálását a Yale Egyetemre (New Haven) való távozása tette lehetővé, ahol S. R. Lipsky professzor laboratóriumában holdminták analizisére külön csoport szerveződött. A hosszú várakozási idő a holdminták érkezésére, lehetőséget és időt adott dr. Horváth Csabának arra, hogy felépítse az első – biológiai anyagok elválasztására alkalmas – folyadékkromatográfot.

Ezt követően intenzív elméleti és gyakorlati munka következett (pl. a preparatív alkalmazás lehetőségének a megoldásai), mely folyamat hosszú évtizedek óta, így ma is tart – mindez Horváth Csaba megérdemelt világhírének alapja. Fényes életútját kitüntetések, díjak, más elismerések sora övezi. Horváth professzor fejlesztő munkája azonban nem állt meg a HPLC legkülönbözőbb változatainál: a kapilláris elektroforézis és a kromatográfia kombinálása ma a számára a legújabban kitűzött „harci” feladat, felhasználva a korábbi évtizedek olykor gyötrelmes tapasztalatait is.

A HPLC ma már az egész világon nélkülözhetetlen analitikai és/vagy preparatív technika, amely a legkülönbözőbb feladatok megoldását segíti. Nincsen olyan analitikai laboratórium, ahol legalább egy HPLC-készülék ne dolgozna. A magyar biokémikusok is évtizedek óta széles körben használják, vásárolják a legkülönbözőbb világcégek által gyártott HPLC-készülékeket, s az elmúlt évtizedek hazai biokémiai eredményei a HPLC-technika előnyeinek a kihasználását is magukban foglalják.

Büszkék lehetünk arra, hogy a nagy karriert befutott HPLC-technika kifejlesztése magyar kutató nevéhez fűződik, s példamutatónak érezhetjük azt a teljesítményt, amit a szülőhazától távol, fáradhatatlan munkával Horváth Csaba professzor elért. Hiszünk abban is, hogy az ún. „magyar kromatográfias maffia” tagjaként sok szép eredménnyel lép még meg bennünket. A 70. születésnap alkalmával magyar biokémikus barátai és a HPLC-t használó magyar biokémikus közösség nevében jó egészséget kívánunk, s további eredményes munkálkodást az elválasztástudomány területén.

Tyihák Ernő

Beszámoló a NATO/FEBS nyári iskolájáról

Dél-Franciaország hegyei között St. Martin de Londres adott otthont a NATO/FEBS Advanced Study Institute nyári iskolájának (2000. szeptember 13–22.) „*Protein modules in cellular signaling*” címmel. A gyönyörű környezetben elterülő helyszínt, egy középkorban épült majorságot, melyet turista-szállóvá alakítottak át, az iskola főszerzője, L. Heilmeyer véletlenül fedezte fel, ugyanis két éve a közelben kapott defektet a kocsija.

A nyári iskolán mintegy 80 hallgató (elsősorban PhD-hallgatók és posztdoktorok) és 17 meghívott előadó vett részt. A 10 napos tanfolyam programját nem szervezték feszesre, ugyanis mind délelőtt, mind délután 2–3 előadás hangzott csak el. Szerencsére a meglehetősen hosszú délutáni sziesztát a szállóhoz tartozó úszómedence elviselhetővé tette. A nyári iskola szervezői több igen neves kutatót is meghívtak. A Nobel-díjas Edmund Fisher a reverzibilis foszforiláció felfedezéséről tartott visszatekintő előadást. Kiemelkedő volt még Josef Schlessinger 3 előadása, melyekben a receptor tirozin kinázokkal működő jelátviteli pályák felfedezéséről adott történeti áttekintést. Schlessinger professzor, aki a közeljövőben veszi át az amerikai YALE Egyetem biokémiai tanszékének irányítását, a mai Horvátország területén született, nagyszülei részben magyarok voltak, így néhány szót magyarul is beszél. James Hurley (USA), akinek szülei részben szintén magyarok voltak, több nagyszerű előadásban mutatta be fehérjedomének háromdimenziós térszerkezetét, melyeket saját munkacsoportja derített fel. Ned Lamb (Franciaország) és Nicholas Tonks (USA) a protein foszfatázokról beszélt. A nyári iskola főszerzője, Ludwig Heilmeyer, a foszfatidil-inozitol 4-kinázokról tartott érdekes előadást. A francia Jacques Pouyssegur a MAP kináz kaszkád szabályozásának legújabb eredményeit ismertette. Sunney Xie (USA) nyelvi nehézségei ellenére zseniális metodikai előadást tartott arról, hogy hogyan lehet megmérni egyetlen enzim molekulát (a koleszterin oxidáz) aktivitását. Jonathan Graves (USA) három nagyszerű előadásban vázolta fel az apoptózisról tudható legújabb ismereteket. Végezetül a három magyar előadó közül Friedrich Péter, aki a szervező bizottság tagja is volt, a fehérjefoszforiláció és a tanulás összefüggéseiről, a MAP2 fehérje biokémiájáról, illetve a calpain-calpastatin rendszerről tartott három érdekes és *humorral* átszótt előadást. Dombrádi Viktor a fehérje foszfatázokról



tartott nagyon jó összefoglalót, majd második előadásában a növényi foszfatázokkal végzett kísérleteit ismertette.

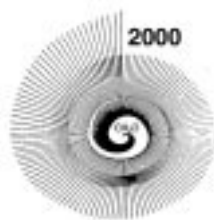
Jómagam a tirozin kinázokkal működő jelátviteli pályák különböző rendszereiről beszéltem három előadásban.

Az iskola félidejében – tanárok, diákok – egy egy napos busz kirándulásra mentünk a csodálatos Cévennek hegységbe. Gyönyörű, szinte csak kőből épült középkori hegyi falvakat, illetve monostorokat látogattunk meg (pl. St. Guilhem-le-desert). Az egyik monostor mellett megtekintettük az angliai Stonehenge „kistestvérét”, egy kb. 5 ezer éve épített temetkezési helyet (*lásd a fényképet*). Meglátogattuk az egyik leghíresebb francia cseppkőbarlangot is (Grotta des Demoilles). Végezetül, lenyűgöző látványt nyújtott Európa egyik legnagyobb, folyó által kimélyített kanyonja, mely leginkább egy vulkán kráteréhez hasonlított (Cirque de Navacelles). A kirándulás végén a napot birka-sütéssel és flamencoesttel fejeztük be.

Bár a nyári iskola szakmailag egyértelműen sikeresnek mondható, a szervezésben számos hiányosság akadt. Így a szálloda szobáiban sem szappant, sem törülközőt nem adtak a vendéglátók, így ha a résztvevők, akár hallgató, akár előadó, nem készült fel erre, komoly problémái támadhattak. Ráadásul a szálloda közelében a legközelebbi bolt is több mint 5 km-re volt megtalálható, így a tisztálkodási eszközök beszerzése gyakorlatilag lehetetlennek bizonyult. Teljesen felborult az előadások rendje is, többek között a dia- és videokivetítés technikai problémái miatt. Így előfordult, hogy a délelőtti szekcióra gyanútlanul, kissé álmosan, jegyzetömbbel érkező tanár akkor tudta meg, hogy a szekcióban neki is elő kell adnia. Ugyanakkor a szálloda szakácsa igazán kitett magáért: a közel két hét alatt a résztvevők a francia konyha válogatott finomságait ízlelhatték meg. Ráadásul a „végtelenített” hordókból korlátlanul lehetett (a reggeli kivételével) vörösbort és rosét csapolni, így a résztvevők egy része vizet csak a fogmosáskor vett a szájába.

Buday László

Rövid beszámoló az 5. Jubileumi Formaldehid Konferenciáról



Immáron az ötödik alkalommal került megszervezésre „A formaldehid szerepe a biológiai rendszerekben – metilezési és demetilezési folyamatok” című nemzetközi konferencia, 2000. október 9. és 13. között.

A rendezvény helye ezúttal a soproni Szieszta Szálló volt. A – Millennium miatt is – minden eddigénél nagyobb szervezést igénylő konferencia tudományos színvonalát illetően sikeresnek ítéltető. A mintegy 70 résztvevő 15 országból (kb. felük Magyarországról) érkezett.

Valamennyien tanúi vagyunk az egyre intenzívebb tudományos forradalomnak, s ezen belül a kémiai és biokémiai felismerések gyors gyarapodásának is, aminek áldásait és negatív hatásait egyaránt érzékelhetjük. Ezt ölelte fel e konferencia tematikája is, amely a legegyszerűbb alifás aldehid, a formaldehid biológiai rendszerekben betöltött szerepével, reakcióival foglalkozott. A jól ismert formaldehid „kétarcú” molekula, egyrészt környezetszennyező (jelen van a kipufogógázokban, dohányfüstben, kibocsátódik műanyagipari termékekből, bútorkból, textíliákból, másrészt – a legújabb kutatások eredményeként – egyre nyilvánvalóbb, hogy a formaldehid, mint az egyik legreaktívabb szerves molekula az élővilág közönséges, de nélkülözhetetlen saját összetevője, mégpedig alapvető funkciókkal. Érthető tehát, hogy a konferencia témái igazodtak a formaldehid kétarcúságához. A formaldehid elméleti kérdéseivel (kvantumbiokémiai szempontjaival) hazai kutatók is foglalkoznak (Pipek J., Kozmutza K. és mások), s érdekes szempont került bemutatásra e kis molekula hidridanion-donor jellegéről (Trézl L.) is. A formaldehid káros hatásai kapcsán emissziós vizsgálatok érintették a formaldehid alapú gyantákat és más termékeket (E. Dilova, C. W. Wörner, Vargha V.). Környezetbiokémiai és környezetvédelmi szempontból különösen érdekes terület a formaldehid toxikológiája, amely témakör a lakások, iskolatermek stb. formaldehidszennyeződéseit helyezi előtérbe idehaza is (Farkas I., Erdei E. és mások), s itt említették meg az exogén anyagokból (pl. gyógyszerekből, növényvédő szerekből)

oxidációs folyamatokban (pl. demetilázok révén) képződő formaldehid kérdését is (Kalász H., M. Pazdzioch-Chochra, Báthori M.).

A konferencia további, biológiai szempontú előadásai/bemutatói közül a formaldehid reakcióit és funkcióit, mint alapszempontokat érintették „A formaldehid a bioszférában” címet viselő szekció előadásai. Az egyik kényes és korábban is sokat vitatott terület, a szén-dioxid megkötése formaldehidben keresztül, két érdekes előadás témáját képezte (R. Houtz, Hullán L.). Figyelemreméltó előadások foglalkoztak a formaldehid előfordulásáról a növényi szövetenyészetekben, az emberi fog kemény szöveteiben, valamint az állati spermaplazmában (László I., T. K. Rózylo, Szilágyi M.). E témakört érintő poszterbemutatók közül kiemelkedett a formaldehid emberi szervezetben való előfordulási viszonyaival foglalkozó poszter (S. Blunden). Több új szempont is megjelent a konferencia programjában a formaldehid és a stressz szindróma fázisainak kapcsolatáról (Albert L., Németh Zs. I., Sárdi É. és mások), valamint a betainok, mint potenciális formaldehidgenerátorok előfordulásáról és biológiai hatásairól (G. Blunden, J. C. Yvin).

A rendezvény egyik kiemelt szekciójában hangzott el a szőlőben és borban előforduló polifenolok és a formaldehid közötti kölcsönhatási reakciókról szóló beszámoló (Tyihák E., Király-Véghely, Bocsi J.) – ezért is szerveződött a konferencia az első hazai ún. Európai Borvárosban, Sopronban. E témakör színvonalát emelte, hogy részt vett a munkában J. C. Ruf (az *Office International de la Vigne et du Vin* képviselője) is, aki összefoglalta a témakörben eddig elért főbb eredményeket. A formaldehid és a *transz*-rezveratrol közötti reakciók felismerése alapvetően új utat nyit e területen, e vizsgálatok nemzetközi folytatása indokolt.

Hasonló témakört érintett az antraciklinalapú antibiotikumok formaldehidfüggő DNS-adduktképzése, azaz a formaldehid szerepe a nevezett antibiotikumcsoport hatásában (S. M. Cutts). Külön szekció foglalkozott a C1-anyagcsere néhány új szempontjával, mint a formaldehid iniciátor és koordinátor jellegével a metilezési és demetilezési reakciókat követő trigger mechanizmusban (E. Malarczyk),

valamint a szulfhidrilreaktív vegyületek lehetséges funkcióival (R. Sprung). Említést kell tenni a formaldehid-anyagcsere mikrobiológiai szempontjaival foglalkozó előadásokról és poszterekről is, hiszen a mikrobiális objektumok kiválóan alkalmasak a formaldehid alapreakcióinak tanulmányozására (M. Jaszek, L. Trézl). A konferencia befejező szekciója a formaldehidanalízis lehetőségeivel foglalkozott a biológiai mintákban (T. K. Rózylo, Hofmann T.). Kétségtelen, e két előadás, de a poszterek témája sem adhatott végleges választ e bonyolult feladat biztonságos megoldásához, s a formaldehidet tartalmazó minták előkészítésére, extrakciójára vonatkozó ismereteket tovább kell bővíteni. A konferencia sikeres munkáját elősegítették a szponzorok, különös tekintettel a Sopron Megyei Jogú Város polgármesterének üdvözlő fogadására,

valamint az ALGEA Alapítvány (Norvégia) és hazai intézmények (MTA, OM, FVM) és cégek támogatására. Köszönet mindezért. Emelte a rendezvény munkáját, hogy a konferenciát üdvözölte dr. Mucsi Imre, a FVM helyettes államtitkára, dr. Király Zoltán akadémikus a MTA részéről, dr. Gimesi Szabolcs Sopron város polgármestere, Prof. G. Blunden pedig a külföldi résztvevők nevében. A konferencia témái, az elért új eredmények azt valószínűsítik, hogy a közeljövőben e területen végre áttörés várható, amiben az érdekelt hazai tudományos közösségnek meghatározó szerepe kell legyen. Ezt – többek között – a jelen előadások publikálásával lehet elősegíteni, s e kétségtelen új, világviszonylatban is egyedülállónak nevezhető konferenciasorozat folytatását itt Magyarországon célszerű megszervezni.

Szilágyi Mihály

A harmadik „Hőgyes Délután”

A harmadik „Hőgyes Délután”-ra 2000. május 2-án került sor, a Semmelweis Egyetem Hőgyes tömbi előadóijában. A nagyszámú hallgatóság két, igen magas színvonalú előadást hallgathatott végig.

Elsőként *Eckhardt Sándor* (Országos Onkológiai Intézet) „A daganatellenes gyógyszerek kutatásának aktuális kérdései” címmel a következő témákról beszélt: (A) A korszerű daganatkezelés három alappillére a sebészi, a sugaras és a gyógyszeres terápia. E modern, háromágú, „komplex” kezelés a betegek mintegy felét meggyógyítja, 25%-ának életét pedig jelentősen meghosszabbítja, de a fennmaradó hányadban hatástalan. Érthető tehát, hogy a terápia hatásfokának növelési igénye a rákkutatás égető problémája, s ezen belül főként a gyógyszeres hatástól várják a megoldást. (B) Jelenleg a rákos betegek kb. 40%-a részesül – betegségének valamelyik szakaszában – kémiai kezelésben. Erre főként azért van szükség mert a daganatok többsége ugyan eltávolítható állapotban kerül felismerésre, de az esetleges szóródás elkerülésének érdekében kiegészítő, daganatellenes, „adjuváns” kezelést kell alkalmazni. Máskor eleve szóródott, többgócú daganatról van szó, amely vagy kemoszenzitív, s

ilyenkor eredményes a kezelés, vagy kemorezisztens, vagyis a beavatkozás kudarcra vár. Érthető tehát, hogy a gyógyszeres kezelés állandó megújulásának szüksége napirenden van. (C) Melyek a kemoszenzitív daganatok? Gyermek- és felnőttkori akut és krónikus leukémiák, Hodgkin-kór, non-Hodgkin szarkómák, myeloma multiplex, csontszarkóma, chorionepithelioma, petefészek-daganatok, a here csírasejtes rákjai, emlőrák, kissejtes tüdőrák. Hormonszenzitívnek bizonyultak a prosztatarák, emlőrák és a méhestrák egyes esetei. Ezekben a daganatos kórképekben kuratív (gyógyító) vagy palliatív (tüneti) terápia egyaránt lehetséges. Ugyanakkor növekszik azon daganatok száma, amelyek az új gyógyszerekkel – a hagyományos gyógyszerek mellett – még eredményesebben kezelhetők. Evvel egyidejűleg a „kemorezisztens” daganatok közül is némelyek „kemoszenzitívvé” válnak. (D) Melyek ezek az új gyógyszerek? Az előadó az elmúlt évtized terméséből számos vegyületet (köztük antimitotikumokat, topoizomerázgátlókat és más enzimgátlókat, antimetabolitokat, alkilező szereket és hormonkészítményeket) emelt ki.

Az új gyógyszerek mellett fontos szerepet játszik új kutatási elképzelések klinikai használhatósága is. A monoklonális ellenanyagok közül kezdetben a Panorex (colorectalis rák), újabban a Herceptin (HER-2 pozitív emlőrák) tűnik a jövő gyógyszerének. A gyógyszer-rezisztencia letörése ugyan régi törekvés, amely eddig nem járt sikerrel. Újabban a cyclosporin vagy a staurosporin típusú vegyületek használata látszik ígéretesnek. A kemoprevenció a karotinoidok sikeres alkalmazásával vette kezdetét, de tamoxifen (emlőrák), finasterid (prostatarák), sulindac (colorectalis rák), és szintetikus retinoidok (etretinát, feuretidin) sikeres alkalmazásával gazdagodott.

Felmerült legújabbban az antiangiogenetikus terápia lehetősége is, amely nem a primer daganat kialakulásának, hanem a daganat áttételezésének gátlását tűzte ki céljául. Mivel az áttét keletkezésének viszont előfeltétele az érképződés, minden vegyület, amely ezt a tevékenységet gátolja egyben nemcsak érképződésgátló, hanem antimetasztatikus hatású anyag is. Számos ilyen gyógyszer kifejlesztésén dolgoznak világszerte. Közülük a thalidomid (glioma ellen), a marinostat (tüdőrák ellen) és az egyes metalloproteinázok érdemelnek figyelmet.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy az előttünk álló évtizedben a rák gyógyszeres kezelésében jelentős előrelépés várható.

Ezután Görög Sándor (Richter Gedeon Rt.) „Gyógyszer-analitika: igények, lehetőségek, perspektívák” című előadására került sor. Az előadásának első részében az előadó a gyógyszer-analitikával szemben a gyógyszeres terápia, valamint a gyógyszeripar és -kereskedelem oldaláról megfogalmazott igényekkel foglalkozott. Ezek az igények elsősorban a gyógyszeres terápia biztonságának fokozását célozzák, de az analitika a nemzetközi gyógyszerkereskedelemben megnyilvánuló konkurenciaharc színterévé is vált. Rendkívüli mértékben kiszélesedett a gyógyszer-analitika területe: meghatározó szerepet tölt be a gyógyszerek kutatásában, fejlesztésében, gyártásában, terápiás alkalmazásukban és kereskedelmükben. A gyógyszer-analitikus kooperációs tevékenysége kiterjed a szerves kémikusokkal, technológusokkal, gyógyszertechnológusokkal, farmakológusokkal, toxikológusokkal, klinikusokkal és a hatósági, törzskönyvező szakemberekkel közösen végzett munkára. A gyógyszer-analitika területének kiszélesedésén kívül a gyógyszer-analitikával szemben támasztott igények növekedése a mérések számának és minőségének nagymértékű növekedését is jelenti (validált

módszerek alkalmazása, a szelektivitás és érzékenység emelése iránti igény).

A következőkben az előadó áttekintést adott azokról a lehetőségekről, amelyeket ki kell használni, ha a gyógyszer-analitika sikerrel akar eleget tenni a vele szemben támasztott követelményeknek. Először a tárgyi feltételekről beszélt: az eredményes és korszerű gyógyszer-analitika eszköztára felöleli az analitikai módszerek széles körét: a klasszikus, spektroszkópiái (UV, IR (Raman), NMR, MS, ORD/CD), diffrakciós, kromatográfiás (TLC, GC, HPLC), elektroforetikus, termoanalitikai és elektroanalitikai módszereket, illetve az ezek összekapcsolásával kialakított nagy hatékonyságú módszereket. Megemlékezett a komputerizálás, automatizálás és robotizálás egyre növekvő jelentőségéről is. A technikai feltételek biztosítása mellett a korszerű gyógyszer-analitikában változatlan, sőt növekvő jelentősége van a humán tényezőnek. Jellemezte azt, hogy milyen ismeretanyaggal, emberi tulajdonságokkal, alkalmazkodó és kooperációs készséggel kell rendelkeznie egy jó gyógyszer-analitikusnak, feladatai sikeres ellátásához.

A gyógyszer-analitika *perspektíváit* is elsősorban a már ismertett igények és lehetőségek határozzák meg. Fel kell készülni az analitikai mérésekkel szemben támasztott igények további növekedésére, mind a mérések számát mind pedig azok minőségét illetően, valamint a követelmények további szigorodására. A lehetőségek oldaláról közelítve a kérdést, a fizikai, fizikokémiai alapokon álló módszerek, a komputer- és robottechnika további térnyerése prognosztizálható. Az előadó a perspektívák vonatkozásában is kiemelte a humán tényező, a gyógyszer-analitika korszerű oktatásának jelentőségét.

Az elmondottakat az előadó egyetlen példával illusztrálta. Bemutatta, hogy a *mazipredon* és a belőle előállított *Depersolon* készítmények minőségével szemben támasztott igények hogyan növekedtek a 60-as évek közepén történt bevezetésüktől napjainkig és milyen módon sikerült a lehetőségek javulásával egyre magasabb színvonalú analitikai információhoz jutni a termékek minőségét és stabilitását illetően.

Végül – a Szervezőbizottság nevében – Mátys Péter lezárta a „Hógyes Délután” előadássorozat tavaszi sorozatát. Hozzátette, hogy a nyári szünet után, szeptemberben hallgathatunk újra színvonalas előadásokat az előadássorozat keretein belül.

Nagy Tamás

Az áruló sejtek

Weinberg, R. A.: HA EGY SEJT MEGKERGÜL. HOGYAN ALAKUL KI A RÁK?

(Könyvismertetés)

Vince Kiadó, Budapest, 1999

Robert A. Weinberg, a Whitehead Intézet Onkológiai Kutatólaboratóriumának igazgatója és számtalan tudományos közlemény szerzője könyvében közérthető formában összefoglalja a daganat kialakulásáról alkotott modern, molekuláris biológiai ismereteket és elméleteket. Az alcím megcsillantja a reményt, hogy megtudjuk, mi az oka a daganatok kialakulásának, de természetesen a kérdésre adott válasz csak azzal a mellékmondatokkal együtt lehet igaz, hogy *mai tudásunk* szerint hogyan alakul ki a rák. A könyv tizenhat fejezete – megemlítve a történeti háttérrel és felvillantva a jelentősebb orvosi megfigyeléseket – végigkalauzol minket az onkogenézis különböző lépcsőfokain. Különösen fontosak a daganatok kialakulásában döntő szerepet játszó onkogénekkal és a daganat kialakulását gátló szuppresszor génekkel, valamint a károsodott DNS-t helyreállító mechanizmusokkal foglalkozó részek. Izgalmas a familiáris daganatok leírása. Itt a molekuláris károsodások modellszerűen vizsgálhatók, és mai tudásunk jelentős része ezekből a megfigyelésekből származik. Fontos megemlíteni azonban, hogy a daganatok többsége sporadikus, azaz nem magyarázható örökletes génhibákkal.

A könyv aktualitását a molekuláris biológia robbanásszerű fejlődése adja, ugyanakkor ebből adódik, hogy bizonyos eredmények a megírás óta átértékelődtek. Az *Út előre* című utolsó alfejezetben említett jóslat a Humán Genom Projekt az ember teljes génkönyvtárának feltárásáról 2000 nyarán – legalábbis a média szerint – megvalósult. A hangzatos bejelentés felkavarta a világ közvéleményét, mert olyan lehetőségek megvalósulásával kecsegtet amelyekről a tudomány még igen messze van. A p53 daganatgátló gén felfedezése idején szintén nagy reményeket keltett, sokan – mint a könyv szerzője is – a kezelés gyökeres megváltozását várta a daganat p53 státuszának ismeretétől. Ma már viszonylag egyszerűen kimutatható a p53 mutációja, azonban kiderült, a p53 molekula is csak egy résztvevője egy bonyolult szabályozó rendszernek, funkciója sokkal összetettebb, mint azt korábban gondoltuk, ráadá-



sul a p53 károsodása bizonyos jóindulatú sejtproliferációkban is kimutatható.

A szerző előszeretettel alkalmaz drámai fordulatokat, a tudományos nézetek ütközése néha gladiátorok harcát juttatja az ember eszébe. Hasonlóan feleslegesen hatáskeltő több helyen a daganatsejtek személyes tulajdon-

ságokkal való felruházása, mintha ezek a szabályozás alól kikerült elemek önálló tudattal rendelkeznének, s gonoszságuk legfőbb célja a szervezet elpusztítása lenne (pl. *Hajtvadászat friss vér után* című alfejezet).

A magyar fordítás, Schoket Zsófia gondos munkája, jól visszaadja a tudományos elméletek olykor izgalmas változásait. Ezzel kapcsolatban két megjegyzést kell tennem: a könyv eredeti címe „*One renegade cell*”, mely nem a legszerencsésebb magyaráttással lett „megkergült” sejt. A kergető jelző magában hordoz némi humoros jelentést, a rákos sejtnak pedig vicces oldalát nem nagyon ismerjük. Szerencsésebb lett volna pl. a „törvényen kívüli sejt” vagy az „áruló sejt” fordítás. Egy másik apróság a fordítással kapcsolatban: szinte kizárt, hogy az eredeti szöveg szerint is az onkogének felfedezése honosította volna meg az onkológia fogalmát, amint ez a 32. oldalon olvasható. Fordítva történt: az onkogen elnevezés képződött az onkológia szóból.

Még néhány szubjektív megjegyzés: a szerző töretlen optimizmusa a többször említett Humán Genom Projekt, a génklónozás, illetve a gyógyszerkutatás fejlődésén alapul, azonban ezeknek a kutatásoknak árnyoldalai is lehetnek. Elég talán utalni a hetvenes években megjelent, a genetikai kutatásokkal kapcsolatos veszélyekkel és morális problémákkal foglalkozó „*Biológiai pokolgép*” című könyvre. Ha a jövőről beszélünk az onkológia területén, bármennyire is molekuláris módszerekkel foglalkozik is egy könyv, sokkal nagyobb hangsúlyt kellett volna kapnia a megelőzésnek, ami csupán igen szerény alfejezetként került be. A daganatos betegségek visszaszorításában a leglátványosabb eredményeket mind a mai napig ily módon sikerült elérni.

Orosz Zsolt

Iván Szilárd 1912-ben született a Temes vármegyei Új-aradon. A Képzőművészeti Főiskolán Réti István növendékeként végzett, majd 1935–36-ban római ösztöndíjas volt. Hazai kiállításai mellett számos európai országban bemutatta vásznait (pl. Franciaországban, Belgiumban, Finnországban). 1937-ben Székely Bertalan-díjjal, 1953-ban Munkácsy-díjjal tüntették ki. 1969-től a Képzőművészeti Főiskola tanára volt. 1988-ban hunyt el Budapesten.

Realista láttatásra törekvő műveit a természethez sok szállal fűződő, szoros érzelmi kapcsolat szövi át. Festményeinek jelentős része hagyományos, mesteri tudással festett tájkép. Tájképfestészetében legkedveltebb témája a Balaton és környéke, de emellett a maga idejében a legkiválóbb portréfestők egyike volt. Grafikával inkább pályája elején, a negyvenes–ötvenes évekig foglalkozott, később olajképeket festett.

Iván Szilárd, A bolond (1934), linómetszet



Az önszervező élet

Paul Davies: AZ ÖTÖDIK CSODA (Könyvismertetés)

Vince Kiadó, Budapest, 2000

Paul Davies nevét nem kell bemutatni a kozmológia iránt érdeklődő olvasóknak: tudományosan mélyszántó, szellemes és gondolatiságában toleráns hangú könyveit (*Az utolsó három perc, Isten gondolatai*) élvezettel olvashattuk magyar nyelven is. E könyvének címét a bibliai Genézisből meríti, ahol is az „ötödik csoda” az élet első említése a teremtés harmadik napján („Azután monda Isten: Hajtson a föld gyenge fűvet maghozó fűvet, gyümölcsfát, a mely gyümölcsöt hozzon az ő neme szerint, a melyben legyen néki magva e földön. És úgy lőn”, 1 Móz. 1,11.) – vagyis természetesen e könyv is az élet eredetének kérdésével foglalkozik. Amint Davies korábbi könyvei, ez a mű is igényes áttekintést ad az élet keletkezésének kurrens és „lejárt” tudományos elméleteiről, molekuláris alapjairól, törzsfajlódási és evolúciós vonatkozásairól, lehetséges kozmikus kapcsolatairól, megközelítésünk termodinamikai és információelméleti ellentmondásairól.



Miért érdemes Davies újabb művét elolvasniuk azoknak, akik nem olvasták korábbi könyveit? Azért, mert a remek tollú (és nem mellékesen Templeton-díjas) szerző rendkívül igényesen foglalja össze a materialista természettudomány álláspontját az élet keletkezéséről – ezenkívül kitérve a metafizika,

illetve a sci-fi világába vezető kérdésekre is. Davies okfejtését alapvetően két tényező, a természeti törvények és a véletlen szerepére vezeti vissza, s a könyv egyes fejezeteit – a tőle megszokott módon – gyakran a tudományterület prominens alakjaitól vett, odaillően frappáns idézetekkel indítja.

Miért érdemes Davies újabb művét elolvasniuk azoknak, akik olvasták korábbi könyveit? Azért, mert újabb értékelésében részletesen kitér egyes kérdésekre, így az RNS-világ modellre, az információ- és összetettségelméleti vonatkozásokra, s nem

utolsósorban az Egyesült Államok Űrkutatási Hivatala (NASA) által 1996-ban közzétett különös felfedezésre, mely szerint poliaromás szénhidrogéneket találtak egy valaha az Antarktiszra becsapódott, a Marsról származó meteoritban. A felfedezés nem azért volt megdöbbentő, mert szerves anyag létét bizonyította egy űrből származó objektumban, hanem azért, mert a nagy teljesítményű elektronmikroszkóp alatt a marsi kő karbonátszemcséin a „csudabogár” archeobaktériumokra emlékeztető fossziliákat is kimutattak – vélhetően a Marson 3,6 milliárd évvel ezelőtt létezett életformák kövületeit. A hír annak idején – azontúl, hogy a sajtót felvillanyozta – hatalmas lökést adott a pánspermia (az űrből származó élet) elméletének, különféle vallási álláspontoknak és a NASA Mars-expedíciós programjainak egyaránt, s gyökeresen új megvilágításba helyezte a tudomány biogenezisről alkotott képét.

S mi említhető a könyv „hiányosságaként”? Véleményem szerint az, hogy Davies, (akinek meggyőződése, hogy az élet gyökerét az összetettségelméletben találhatjuk) afféle evolúciós extrapolációként szintén különösebb fenntartás és bizonyíték nélkül elfogadja, gyakorlatilag tényként említi a molekuláris szintű (tehát az önreprodukcióra képes szervezeteket megelőző szinteken bekövetkező) evolúció létét – ha nem is a Stanley Miller-i „ősleves” értelmezésében, de mindenképpen a természeti folyamatok önszervező képességének egyszerű következményeként –, annak ellenére, hogy ennek kapcsán az utóbbi évtizedekben élénk vita zajlik. A molekuláris szintű spontán evolúcióban maradéktalanul hívő kozmológusokhoz hasonlóan – bár renegát s egyben egyik legtoleránsabb képviselőjük – kétségkívül Daviest sem sokban érintik az abban kételkedők érvei.

Székács András

VESZPRÉMI KUTATÓK SIKERE

Bélafiné dr. Bakó Katalin és dr. Gubicza László (a veszprémi Műszaki Kémiai Kutató Intézet tudományos főmunkatársai), valamint dr. Marcel Mulder (Hollandia) szerkesztésében nemrég látott napvilágot egy angol nyelvű szakkönyv New Yorkban



"Integration of membrane processes into bioconversions"

(„Membrános műveletek és biokonverziók integrálása”) címmel.

A Kluwer/Plenum Press Kiadó megtisztelő felkérésére a tavaly augusztusban hasonló címmel, Veszprémben megrendezett (nagy sikerű) Európai Membrános Nyári Egyetemen elhangzott előadásokból szerkesztették a könyvet a szakemberek. Az egyes fejezetek szerzői között találkozhatunk a membrántechnológiák legnevesebb európai szaktekintélyeivel éppúgy, mint hazai kutatókkal. A borsos árú könyv a membrán szeparációs műveletek és a biotechnológia közti határterületek kutatásának legújabb tudományos eredményeit mutatja be.

Minden kedves olvasónak
Boldog Karácsonyt,

és eredményekben gazdag új esztendőt kíván a

MBKE Intéző Bizottsága.