

BIOKÉMIA

A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET TAJÉKOZTATÓJA

VI.évf.1.szám

1982 március

Szerkesztő Bizottság : ALKONYI István, BAGDY Dániel, FALUS András,
GARZO Tamás, GERGELY Pál és SZÁSZ Ilma

Felelős szerkesztő : BAGDY Dániel

Technikai szerkesztő : BÖLÖNI Erzsébet és JURACSIK János

A tartalomból:

I d ő s z e r ű k é r d é s e k

Adeninnukleotid- és foszfáttranszport mitokondriumokban

Poliszubsztrát monooxygenáz - xenobiotikumokat biotranszformáló
enzimrendszer

A human trombociták vizoldható frakciójában található IgG-hez
és miozinhoz kötődő fehérje vizsgálata

F i g y e l ő

Tallózás a TIBS lapjain /1981 április-december/

E g y e s ű l e t i é l e t

Szakosztályok és szakcsoportok terveiről

A Neurokémiai szakosztály munkájáról

A Nukleinsav és fehérjebioszintézis szakosztály munkatervéről

A Patobiokémiai szakosztály feladata és tervei

Szteroidbiokémiai szakcsoport

H i r e k é s e s e m é n y e k

+

E szám szerzői :

ALKONYI István POTE Biokémiai Intézet

HUSZTI Zsuzsa SOTE Gyógyszerhatástani Intézet

JANCSÓ Ágnes ELTE Biokémiai Intézet

JENEY András SOTE I.Kóronctani Intézet

LIGETI Erzsébet SOTE I.Élettani Intézet

MOLNÁR János SZOTE Biológiai Intézet

SZÁSZ Ilma Országos Haematologiai és Vértranszfúziós Intézet

SZEBERÉNYI Szabolcs Országos Munka és Üzemegészségügyi Intézet

SZENTIRMAI Attila Gyógyszerkutató Intézet

UHER Ferenc ELTE Gödi Biológiai Allomás, Immunológiai csoport

időszerű KÉRDÉSEK

ADENINNUKLEOTID- és FOSZFÁT-TRANSPORT MITOKONDRIUMOKBAN

A sejt citoplazmájában keletkező metabolitok végső lebontását a mitokondrium belső, un. matrix terében elhelyezkedő enzimek végzik. A citoplazmából származó ADP-ből és foszfátból ugyancsak a mitokondrium membrán belső oldalán keletkezik ATP, amely azután a sejt legkülönbözőbb részein kerül felhasználásra. Számos olyan folyamatot is ismerünk, amelynek néhány lépése a mitokondriumokban, többi része a sejt más helyén megy végbe - pl. az urea szintézise, a szteroid-szintézis, a glukoneogenezis. Mindezeknek a reakcióknak alapfeltétele az, hogy a vízoldékony vegyületek és különböző ionok átjussanak a mitokondrium kettős membránján. A belső membrán igen kevésbé permeabilis poláros molekulák számára, tartalmaz viszont speciális transzport rendszereket /összefoglaló : 1/. Ezek a carrierok alapvetően különböznek a transzport-ATP-aktól : működésük nem jár ATP bontással és a transzlokáció irányát a szállított anyag koncentráció-viszonyai, valamint a légzési lánc H^+ -pumpái által kialakított membránpotenciál $\Delta \psi$ / és pH különbség együtt határozzák meg.

Az 1970-es évek közepéig a carrierok in situ megismerése volt a fő probléma, azaz a szállított vegyületeket, a transzport kinetikáját, a specifikus gátlószereket vizsgálták intakt mitokondriumokon. A hetvenes évek második felében egyre inkább előtérbe került ezeknek a fehérjéknek az izolálása és tisztítása, majd az így nyert carrier működésének összehasonlítása a teljes mitokondriumokon mért adatokkal. Ez utóbbi cél érdekében a tisztított fehérjét mesterséges lipid membránba, többnyire liposzómába építik. Ezt az eljárást nevezik rekonstitúciónak. A fenti próbálkozások az adenin nukleotid és a foszfát carrier esetében jártak a legtöbb sikerrel, ezért a továbbiakban ezzel a két transzlokátorral foglalkozom részletesebben.

Az adenin-nukleotid /AdN/ carrier /összefoglaló : 2,3/

Intakt mitokondriumokban az ADP és ATP 1:1 arányu kicserélését végzi, a rokon szerkezetű vegyületeket, mint az AMP-t, adenzint, adenint, guanin-nukleotidokat, azonban nem szállítja. Hosszu ideig éles

vita folyt a transzport töltésviszonyairól. Ugyanis pH 7.4-en az ADP-nek mintegy 90 %-a ADP^{3-} formában, az ATP 70 %-a viszont ATP^{4-} , 30%-a HATP^{3-} formában van jelen. Elméletileg a kicserélődés tehát akár az $\text{ATP}^{4-}/\text{ADP}^{3-}$ között, azaz elektrogén uton, akár a $\text{HATP}^{3-}/\text{ADP}^{3-}$ között, azaz elektroneutrális uton létrejöhet. Utóbbi esetben az ATP-vándorlást kötelezően H^+ - mozgásnak kellene követnie. A kérdés eldöntésére LaNoue végzett alapvető kísérleteket/4/, amikor kimutatta, hogy az ATP/ADP kicserélődés során az ATP mozgását elektromosan egyenértékű kation vándorlása kíséri, de ez a kation K^+ vagy H^+ egyaránt lehet - attól függően, hogy melyik ion számára növeljük meg a membrán permeabilitását / - a K^+ -ét valinomycinnel, vagy a H^+ -ét FCCP-vel /. Tehát az adeninukleotidok transzlokációja és a kompenzáló kationmozgás egymástól független mechanizmussal mennek végbe, s maga az AdN carrier elektrogén transzportot végez.

A sejt fiziológiás működése során a carrier a citoplazmában keletkező ADP-t cseréli ki a mitokondrium belsejében szintetizálódott ATP-re. A folyamatot elősegíti a belső membrán két oldala között fennálló, kb. 150 mV értékű, belül negatív membránpotenciál. Az ellentétes irányu transzportot, tehát a külső ATP és a belső ADP kicserélődését viszont a membránpotenciál gátolja. Ez a magyarázata annak, hogy izolált mitokondriumon a transzport félmaximális sebességének eléréséhez / a továbbiakban K_M / 1 - 10 mikromól ADP-vel szemben 150 mikromól ATP szükséges. A membránpotenciál megszüntetésekor az ATP K_M értéke is 1 mikromól körüli értékre csökken.

Az AdN carrier működését specifikusan gátolja két toxikus glikozid, az atraktulozid / ATR / és a karboxiatraktulozid / CAT /, valamint egy kókuszbontási termék, a bongkreksav / BK /. Az atraktulozid kompetitív gátlást okoz, kötéséből ADP-vel vagy ATP-vel 1:1 arányban felszabadítható. Ezzel szemben a karboxiatraktulozid nem kompetitív módon gátol. Mindkét atraktulozid-féleség csak intakt mitokondriumon fejti ki hatását, kifordított / inside - out / vezikulumon hatástalanok. Ultrahangos kezelés, azaz a membrán integritásának megszakítása nem növeli az atraktulozid kötőhelyek számát. Ezeknek a kísérleteknek az alapján általánosan elfogadott, hogy az atraktulozidok a membrán külső / citoplazmatikus / oldala felől hatnak. A bongkreksav a kísérleti körülményektől függően unkompetitív

vagy kevert típusu gátlást hoz létre és hatása erősen függ a közeg pH-jától. Savanyu pH-n mind a kötődés, mind a transzport-gátlás alacsony BK-koncentrációnál éri el a maximumot. Ilyen feltételek között a BK disszociálatlan formában atjut a mitokondrium belső membránján; pH 6.5-ön a jelzett BK 70%-a a belső membránhoz kötve, 30%-a a matrix térben oldva található. A fentiek alapján nagyon valószínűnek látszik, hogy a BK a membrán belső oldala felől hat. Érdekes jelenség, hogy az atraktulozidok és a BK egymás kötődését kis mértékben gátolják, és ez a hatás ADP vagy ATP jelenlétében igen jelentőssé válik. Adeninmukleotidok jelenlétében az SH-reagens NEM is képes gátolni az AdN carriert, míg hiányukban ez a vegyület hatástalan.

Mai elképzelésünk szerint tehát az AdN carrier integráns membránfehérje, amely mindkét oldalon tulnyulik a membrán hidrofób fázisán. Ezekhez a tulnyuló, poláros részeihez kötődnek a külső, citoplazmatikus oldalon az atraktulozidok, a belső, matrix felőli oldalon pedig a bongkreksav. A transzportálandó szubsztrátum / ATP vagy ADP / jelenlétében konformációváltozás következik be, amelynek megnyilvánulása a különböző támadáspontu ligandok erős hatása egymás kötődésére, valamint az NEM számára hozzáférhető SH-csoportok megjelenése.

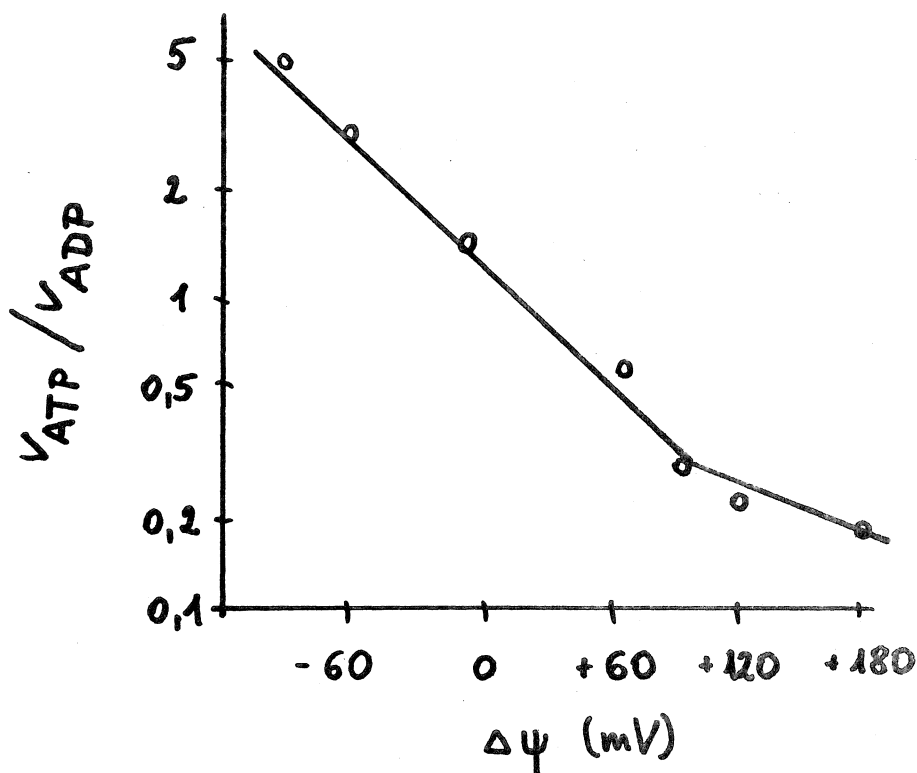
Az AdN carrier mennyiségének megbecslésére az ADP-vel vagy ATP-vel felszabadítható atraktulozid arányát használták fel: patkány máj mitokondriumban $0.3 \text{ nmol} \times \text{mg fehérje}^{-1} / 2/$, marhasziv mitokondriumban $1.5 \text{ nmol} \times \text{mg fehérje}^{-1}$ értéket kaptak /3/. Tehát - ha 60 000-es molekulaszámmal számolunk /1.később/ - az AdN carrier képviseli a mitokondrium teljes fehérjetartalmának 2-10 %-át. A transzport maximális sebessége 0 C°-on $3-6 \text{ nmol} \times \text{mg}^{-1} \times \text{min}^{-1} / 2/$.

A carrier fehérje preparálásáról 1974-ben /5/ és 1975-ben /6/ jelentek meg az első közlemények. A következő módszer bizonyult a legeredményesebbnek: az intakt mitokondriumhoz radioaktív ligandot kötöttek / ^{35}S -CAT vagy ^3H -BK /, majd 4% Triton-X-100-ban feloldották a membránt. A tisztítást hidroxipatit és agaróz-oszlopon végezték. Az eluátumban egyetlen fehérjecsucs jelent meg, amelynek molekulaszáma SDS-gélelektroforézissel 30 000-nek bizonyult.

A BK-kötő és a CAT-kötő fehérje molekulasúlya, izoelektromos pontja és aminosavösszetétele azonos, valamint ADP vagy ATP jelenlétében a BK-protein jelentős mennyiségű CAT-t köt és BK-t enged el, ill. fordítva, a CAT-protein BK-t köt. Tehát a két különböző liganddal jelezve azonos fehérjét sikerült preparálni, amelyen a gátlószerek ugyanugy befolyásolják egymás kötődését, mint intakt mitokondrium esetében /7/. A tisztított fehérje maximális gátlószerekötése 16-18 mikromól x g tisztított fehérje⁻¹, azaz kb. 60 000-es molekulasúlyra jut egy kötött ligand /6/. Ugyanakkor gélelektroforézissel 30 000-es molekulasúlyt mértek. Ez az eltérés felveti a dimer szerkezet lehetőségét.

A marker-kísérletek tapasztalata alapján már ligand nélkül preparált, tisztított fehérjét 1977-ben sikerült először liposzómába építeni és az AdN carriert rekonstituálni /8/. Vignais munkacsoportja 1980-ban már kinetikai méréseket is közölt /9/ : a mesterséges rendszerben is 1:1 arányú kicserélés történik, a folyamat telítési kinetikát mutat. Az ADP K_M -je 10 mikromól, csaknem azonos az intakt mitokondriumon mért értékkel, ami valószínűsíti azt, hogy a működő carrier-molekulák az eredeti konformációban épültek be a membránba. A maximális transzport sebesség 20 °C-on 750 nmol x mg⁻¹ x min⁻¹. A transzport elektrogén vagy elektroneutrális voltát Klingenberg munkacsoportja vizsgálta /3/. A liposzómán belüli és kívüli K⁺ koncentráció változtatásával valinomycin jelenlétében különböző mértékű diffúziós potenciált hoztak létre, és mérték az ATP és ADP felvétel sebességét /lásd az 1. ábrát/. A membránpotenciál növelése fokozatosan csökkenti az ATP-felvételt és növeli az ADP-felvétel sebességét. pH-különbség csak minimális mértékben befolyásolja a két nukleotid transzportját. Tehát a transzlokáció egyértelműen elektrogén.

A rekonstituált rendszerben mindhárom említett specifikus inhibitor gátolja a transzportot. Az atraktulozid kompetitív módon, a CAT nem kompetitíven, a BK-gátlás pedig ugyanolyan pH-függést mutat, mint intakt mitokondriumon. Az inhibitorok disszociációs konstansa is igen közel van az intakt mitokondriumon mért értékhez. Tehát a rekonstituált carrier-fehérje orientációja a mesterséges és a mitokondrium membránban feltehetően azonos. CAT és BK a rekon-



1. ábra : A membránpotenciál változtatásának hatása az ATP- és az ADP-felvétel sebességére.

Liposzómába épített AdN carrier; a potenciál-értékek a külső oldalra vonatkoznak. Krämer és Klingenberg nyomán /21/.

stituált rendszerben is csökkenti egymás kötődését, és ez a jelenség ADP jelenlétében sokkal kifejezettebb. Az inhibitor kötőhelyek száma azonban lényegesen alacsonyabb. A telithető, magas affinitású ATP-kötés csak $1.2 \text{ nmol} \times \text{mg}^{-1}$ tisztított fehérje /9/, és $0.8 \text{ nmol} \times \text{mg}^{-1}$ kötött CAT maximális mértékben / 90 % / gátolja az AdN kicserélődést /3/. Ugyanakkor a szolubilizált fehérjéhez $16 - 18 \text{ nmol} \times \text{mg}^{-1}$ ligand kötődött /6/. A kötőhelyek alacsony száma, valamint a kevés kötött ligand által létrehozott maximális gátlás arra mutatnak, hogy a tisztított fehérjének csak mintegy 5 %-a épült be eredeti konformációban a mesterséges lipid környezetbe, ezek a beépült molekulák viszont teljes mértékben visszaadják az intakt mitokondriumokon tapasztalt jellegzetességeket / transzport-kinetika, inhibitor-

érzékenység, K_d értékek/. További feladat a rekonstitúció technikájának finomítása és ennek révén a helyesen beépülő fehérje arányának növelése.

A legutóbbi években sikerült tehát az első mitokondriális carrier megbízható izolálása : a mesterséges rendszerben mért paraméterek megegyeztek a korábban ép mitokondriumon nyert adatokkal, és a két, egymástól független munkacsoport eredményei megerősítették egymást. Az izolálási technika tökéletesítése után most már nyitva áll az út a mélyebb, molekuláris vizsgálatok irányába : az aminosav-sorrend, a funkcionális csoportok helyzetének, a fehérje térszerkezetének meghatározására, a szubsztrátum által létrehozott konformációváltozás jelentőségének és a transzporttal való kapcsolatának tanulmányozására, s végül - a transzport szubmolekuláris szintű magyarázatára.

Foszfát carrier /összefoglaló : 10/

Anorganikus foszfátionok / P_i / felvételét és leadását segíti, ezenkívül $P_i - P_i$ kicserélésben is közreműködik. Foszfát-influx során a külső közegben a pH emelkedik, a mitokondriumon belül pedig csökken, míg P_i efflux során ugyanezek a változások fordítva zajlanak le. A foszfátionok megoszlása a külső és belső tér között azonos a H^+ ionok megoszlásával. Mindezek alapján a transzportot elektromosan teljesen kompenzált / elektroneutrális / $P_i - H^+$ szümportnak vagy $P_i - OH^-$ antiportnak tartjuk; a két egyenértékű változat között mai tudásunkkal nem tudunk különbséget tenni.

A transzport folyamat igen gyors, maximális sebessége $0\text{ }^\circ\text{C}$ -on $200\text{ nmol} \times \text{min}^{-1} \times \text{mg fehérje}^{-1}$, ami legalább egy nagyságrenddel nagyobb minden más mitokondriális transzlokáció sebességénél /2/. A foszfát K_M értékét 1.6 ill. 1.95 mM-nak találták.

Nem eldöntött kérdés, hogy a foszfátnak melyik ionizált formáját szállítja a carrier. A K_M érték pH 6.5-ön jelentősen alacsonyabb, mint pH 7.4-en, ami arra enged következtetni, hogy a $H_2PO_4^-$ volna a transzportált forma. Viszont szintetikus szubsztrát-analogokkal végzett kísérletek arra utaltak, hogy az egyik negatív töltéssel rendelkező ion egyáltalán nem jut be a mitokondriumba, csak a két ne-

gativ töltéssel rendelkező analog transzportálódik.

A foszfát carriert a legkülönbözőbb SH-reagensek gátolják. Először a szerves Hg-vegyületek - mersalyl, parahidroximercuribenzoát /PHMB/ - hatását irták le. Ezek reverzibilis gátlást okoznak : ciszteinnel vagy merkaptotetanollal a foszfát-carrier reaktíválható. Mindkét inhibitor impermeabilis és hatása pillanatszerűen nyilvánul meg. Az alkilező szerek közül az N-etil-maleimidet /NEM/ használják a legtöbbet, amely irreverzibilis gátlást hoz létre. A reakció erősen időfüggő, alacsonyabb koncentrációk esetében több percre is szükség lehet a hatás teljes kifejlődéséhez. A NEM átjut a mitokondrium membránján, így a belső felületen lévő SH-csoportokkal is reagálhat. A ditiolok közül az 5-5'-ditio-bis/2-nitrobenzoosav/-at /DTNB/ vizsgálták legtöbbet. Ez a vegyület a foszfát-carrier SH-csoportjaival vegyes diszulfidot képez s ez a reakció elvileg reverzibilis. A merkaptotetanol és cisztein gyakorlatilag nem reaktíválja a carriert, a ditiotreitól vagy ditiogeritritól viszont részben felfüggeszti a gátlást. A DTNB szintén impermeabilis és a hatása erősen időfüggő.

A fentiekben felsorolt vegyületek a foszfát carrieren kívül sok más fehérje SH-csoportjaihoz is képesek kötődni és magasabb koncentrációkban sok más carriert is gátolnak. Így a megkötött inhibitor mennyiségéből nem lehet direkt következtetést levonni a carrier molekulák számára vonatkozólag. Leginkább specifikusnak a DTNB hatása tűnik , a foszfát-transzport 95%-os gátlásakor 45 pmol DTNB kötődött 1 mg mitokondriális fehérjéhez /11/.

A szerves Hg-vegyületek alacsony koncentrációkban nem gátolják a foszfát transzportot. Bármilyen szövetből származó / patkány máj, disznó sziv, légy repülőizom / mitokondriumot vizsgáljunk, vagy bármilyen módszert alkalmazunk a transzport mérésére, a gátlás - inhibitor-koncentráció közti összefüggés ábrázolásakor mindig szigmoid-alaku görbét kapunk / 2.ábra - x-x-x görbe /. Ha viszont alacsony koncentrációju mersalyl vagy PHMB jelenlétében a további SH-csoportokat NEM-mel megkötjük, akkor merkaptotetanollal reaktíválható a foszfáttranszport / 2.ábra o-o-o görbe /. Tehát az alacsony koncentrációban alkalmazott szerves Hg-vegyület - bár nem gátolta a transzportot -

mégis működő carrier-molekulához kötődött és "megvédte" azt a NEM irreverzibilis hatásától. Ezt a jelenséget nevezik a mersalyt vagy pHMB protektív hatásának.

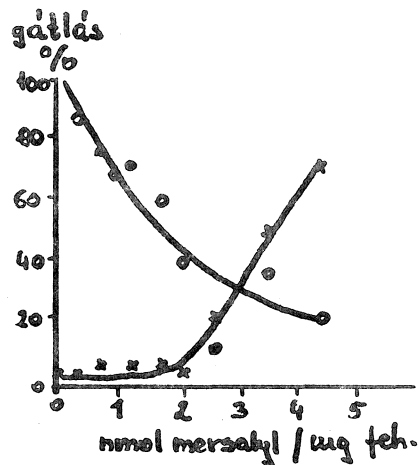
2. ábra

A foszfáttranszport gátlása
intakt mitokondriumban

x-x-x a mersalyt gátló
hatása

o-o-o a mersalyt protektív
hatása

Fonyó A. és mtsai nyomán /12/



A fenti megfigyelések alapján született meg az a hipotézis, hogy a foszfátcarrier két SH-csoporttal rendelkezik, s ezek közül csak az egyiknek kell szabad állapotban lennie ahhoz, hogy a transzportfolyamat végbemenjen /13/. Továbbá, hogy az SH-csoportok szekvenciálisan reagálnak a gátlószerezrel, tehát előbb mindegyik carrier molekula egyik SH-csoportja köt egy inhibitort és csak ezután lép a második SH csoport is reakcióba. Az SH csoportok feltehetőleg a membrán külső felületén vagy annak közelében helyezkednek el, mivel az impermeabilis gátlószerek is teljes mértékben hatásosak. A mitokondrium különböző állapotaiban az SH csoportok reaktivitása jelentősen változhat. Foszfát jelenléte, vagy a membrán H^+ -permeabilitásának növelése csökkenti mind a NEM, mind a DTNB iránti érzékenységet, míg K^+ jelenlétében a valinomycin növeli azt. Feltehetőleg az intramitochondriális pH eltolódása okoz olyan / konformáció ? / változást a transzlokátor fehérjében, ami a külső felületi SH csoportok helyzetét és ennek révén reakcióját befolyásolja /11/.

A foszfát-carrier izolálása, tisztítása és rekonstitúciója téren sokkal kevesebb látványos eredmény született, mint az AdN carrier esetében. A munkát lényegesen megnehezíti a nagy affinitású és nagy specificitású gátlószerek hiánya, valamint az a tény, hogy a foszfát-carrier a mitokondrium fehérjetartalmának sokkal kisebb hányadát kép-

viseli, mint az AdN carrier. A fehérje azonosítására és molekulasúlyának meghatározására több eljárással próbálkoztak. Egyrészt felhasználták a szerves Hg-vegyületek "protektív" hatását, és kis koncentrációju pHMB után inaktív NEM-et, majd merkaptotetanolt alkalmaztak. Az ezután adott radioaktív NEM elsősorban a foszfát-carrierhez kötődött. Azonban SDS elektroforézissal így is 5 csucst kaptak, amelyek közül egy 32 000-es molekulasúlyu frakció ligand-kötése volt a legnagyobb /14/. Hasonló eljárás alapján egy 26 500-as /15/ illetve egy 30 000-es molekulasúlyu fehérjét /16/ tekintettek foszfát-carriereknek. Egy másik eljárásban légy repülőizmából preparált mitokondriumot vizsgáltak, amelyről feltételezték, hogy benne több a foszfát-carrier és kevesebb az egyéb NEM-kötő fehérje. A membránt direkt uton radioaktív NEM-mel kezelték s ennek nyomán SDS-gélelektroforézissel 7 csucst kaptak, amelyeknek mindegyike jelentős mennyiségű jelzett ligandot kötött. Szerves higanyvegyületek "protektív" hatása, CAT-kötés és több szövetféleségből készült preparátum összehasonlító vizsgálata alapján végülis eljutottak egy 32 000-es molekulasúlyu fehérjéhez, amit P_i carriernek tartottak /17/. Egy harmadik munkacsoport ^{203}Hg -mersalyll jelzéssel próbálkozott. A specificitás növelése érdekében először eltávolították a mitokondrium külső membránját, és az így kapott mitoplasztokat jelezték. Ezután konyhasóval és oktil-glukoziddal mosták a membránt, amivel a lazán kötődő, perifériás membránfehérjéket sikerült eltávolítani. SDS-gélelektroforézissel egy 31 000-es molekulasúlyu fehérjét különítették el, amelynek ^{203}Hg -mersalyll kötése arányos volt a transzportra kifejtett hatással, és a két folyamat azonos mersalyll koncentrációnál telítődött. Gélfiltrációval ez a fehérje 70 000-es molekulasúlyt mutatott, ami a foszfát-carrier esetében is felveti a dimer szerkezet lehetőségét /18/. A különböző preparátumokban a feltételezett P_i carrier ligandkötése 24-30 nmol x g fehérje⁻¹ /18/, ami jó egyezést mutat az intakt mitokondriumokon DTNB kötés alapján kapott értékkel /11/. Tehát 30 000-es molekulasúlyal számolva a P_i carrier a mitokondrium teljes fehérje tartalmának mindössze 0.1 %-át képviseli. /v.ö. AdN carrier 2-10%.

Az aktív carrier tisztítását Triton-X-100-ban történő feloldás után hidroxipatit oszlopon végezték. Az eluátumban két fehérjét találtak : a P_i -carriert és az AdN-carriert /19/. Egyelőre nem tisztá-

zott, hogy ez az együtt-vándorlás véletlen jelenség-e vagy pedig a két carrier közelebbi kapcsolatára utal. Az így tisztított P_i carrier molekulasulya 33 500-nak bizonyult /19/. A hidroxipatit oszlop-kromatográfiát követően Celite-s oszlop-kromatográfiát alkalmazva az eluátumban egyetlen, 34 000-es molekulasulyu fehérjét találtak; ez azonban gradiens-elektroforézissel 4 komponensre vált szét /20/. Hogy ezek a foszfát-carrier esetleges alegységei vagy proteolitikus termékek-é, vagy talán együtt vándorló, de különböző funkcióju fehérjéket képviselnek-e, egyelőre még tisztázatlan.

A hidroxipatit-, ill. celitoszlopról lefolyt eluátumot két munkacsoport próbálta meg liposzómába építeni. Minaketten tapasztaltak $P_i - P_i$ kicserélődést s ez WOHLRAB kísérletében 89-100 %-ig érzékeny volt NEM-re, mersalytra, pHMB-re és nem volt gátolható CAT-tal. A transzport maximális sebessége $990 \text{ nmol} \times \text{min}^{-1} \times \text{mg fehérje}^{-1}$ /19/. KADENBACH munkacsoportja nagyobb sebességet kapott / $1200 \text{ nmol} \times \text{mg fehérje}^{-1} \times \text{min}^{-1}$ /, de csak az NEM iránti érzékenységet közölték/20/.

A foszfát-carrierről tehát ma azt tudjuk, hogy integráns membránfehérje, amely igen kis mennyiségben található meg a mitokondrium belső membránjában. Működéséhez szabad SH csoport szükséges, ennek közelebbi feladatáról és pontos elhelyezkedéséről azonban hiányosak az ismereteink. Ugyancsak nem eldöntött a molekulasuly, az esetleges alegység-szerkezet, a polipeptidláncok száma és a rekonstitúció terén is csak az első, kezdeti próbálkozások történtek meg. Így még néhány év szükséges ahhoz, hogy a transzport molekuláris mechanizmusa rendszeresen tanulmányozhatóvá váljék.

LIGETI Erzsébet

I R O D A L O M :

- 1/ K.F.LaNoue és A.C.Schoolwerth, 1979, Ann.Rev.Biochem. 48, 871-922.
- 2/ P.V.Vignais, 1976, Biochim.Biophys.Acta, 456, 1-39.
- 3/ M.Klingenberg, 1980, J.Membr.Biol. 56, 97-105.
- 4/ K.F.LaNoue és mtsai, 1978, J.Biol.Chem. 253, 191-199.
- 5/ G.Brandolin és mtsai, 1974, FEBS Lett. 46, 149-153.
- 6/ P.Riccio és mtsai, 1975, FEBS Lett. 56, 133-138.

- 7/ H.Aquila és mtsai, 1978, Eur.J.Biochem. 85, 549-560.
- 8/ R.Krämer és M.Klingenberg, 1977, Biochemistry 16, 4954-4961.
- 9/ G.Brandolin és mtsai, 1980, Biochim.Biophys.Acta 592, 592-614.
- 10/ A.Fonyó, 1979, Pharmac.Ther. 7, 627-645.
- 11/ A.Fonyó és P.V.Vignais, 1980, J.Bioenerg.Biomembr. 12, 137-149.
- 12/ A.Fonyó és mtsai, 1975, a "Biomembranes, Structure and Function"
/eds.: G.Gárdos and I.Szász/ c.kötetben, 287-306. Akadémiai kiadó, Budapest.
- 13/ A.Fonyó, 1974, Biochem.Biophys.Res.Comm., 57, 1069-1073.
- 14/ W.A.Coty és P.L.Pedersen, 1975, J.Biol.Chem., 250, 3515-3522.
- 15/ P.Hadváry és B.Kadenbach, 1979, Eur.J.Biochem. 67, 573-581.
- 16/ S.Touraille és mtsai, 1980, FEBS Lett. 121, 230-234.
- 17/ H.Wohlrab, 1979, Biochemistry 18, 2098-2102.
- 18/ H.D.Hofmann és B.Kadenbach, 1979, Eur.J.Biochem. 102, 605-613.
- 19/ H.Wohlrab, 1980, J.Biol.Chem., 255, 8170-8173.
- 20/ H.V.J.Kolbe és mtsai, 1981, FEBS Lett. 124, 265-269.
- 21/ R.Krämer és M.Klingenberg, 1980, Biochemistry, 19, 556-560.

POLISZUBSZTRÁT MONOOXIGENÁZ - XENOBIOTIKUMOKAT
BIOTRANSZFORMÁLÓ ENZIMRENDSZER

1980 júniusában, Saltsjöbadban (Biochemistry, Biophysics and Regulation of Cytochrome P-450, Third European Meeting, Sweden) született a poliszubsztrát monooxygenáz (PSMO) elnevezés annak az enzimrendszernek (cytochrom P-450) megjelölésére, amelynek jelentősége pl. a környezethez való alkalmazkodásban aligha vitatható. A cytochrom P-450 ma valószínűleg a legintenzívebben tanulmányozott enzim(csoport), biokémikusok, farmakológusok, toxikológusok, endokrinológusok, biofizikusok, onkológusok vizsgálják.

A PSMO rendszer az endoplazmás retikulum membránba épült flavoproteinből (NADPH cytochrom P-450 reduktáz) és cytochrom P-450 izoenzimiek csoportjából áll; igen nagy számú, változatos szerkezetű testidegen vegyület (xenobiotikumok, pl. gyógyszerek, policiklikus aromás szénhidrogének, peszticidok, stb.) oxidatív biotranszformálását katalizálja. E lipofil szubsztrátokból a metabolizálás (epoxid képzés, aromás-, alifás hidroxilezés, N-, O-, S-dealkilezés, stb.) eredményeként polárosabb, általában biológiailag kisebb aktivitású, könnyebben kiüríthető termékek képződnek ("detoxikálás"). Esetenként a xenobiotikumokból aktív metabolitok, toxikus anyagok, karcinogének képződ(het)nek, így az oxidációs folyamatok "méregtelenítő" jellege nem általános. A PSMO enzimrendszer endogén anyagok biológiai inaktiválását is katalizálja: természetes szubsztrátjai a szteroid hormonok, thyroxin, zsírsavak, prostaglantinok, metilpurinok, indolszármazékok, stb.

Az ismeretek fejlődéstörténetének vázlata

A testidegen anyagokat detoxikáló biokémiai folyamatok kutatása a múlt században kezdődött: az első felfedezés a beadott benzoecsavból keletkező hippursav kimutatása volt (W. Keller, 1842). 1867-ben O. Schultzen és B. Naunyn benzol adagolás

után fenol képződését és ürítését írták le. A század végére számos "detoxikáló" folyamatot ismertek meg - a felfedezések a szerves kémia fejlődésével haladtak együtt; egy-egy új vegyület-típus sikeres szintézise után hamarosan megvizsgálták biológiai hatásait is és sorsát a szervezetben. A csaknem kizárólag in vivo vizsgálatokban a beadott vegyület vizeletben ürülő metabolitjait elemezték. A vese az ionos és poláros anyagokat excretálja, lipofil vegyületek a tubulus sejtek lipoprotein membránján át visszaszívódnak.

B.B. Brodie (NIH, Bethesda) a második világháborút követő években a gyógyszerek hatásereossége és plazmakoncentrációjuk összefüggéseit tanulmányozva, lipofil anyagok (első sorban farmakonok) felszívódási, megoszlási viszonyait meghatározó szabályokat állapított meg. Nyilvánvalóvá vált, hogy lipofil vegyületek csak metabolizált, polárosabbá alakított formában ürülhetnek. T. Butler számításai szerint clearance-ük olyan lassú, hogy metabolizálatlan formában éveken át perzisztálnának a szervezetben. Brodie laboratóriumában az 1950-es években az apoláros anyagokat kevésbé lipofil molekulákká átalakító máj enzim rendszer vizsgálata indult meg (J.J. Burns, J. Axelrod, S. Udenfriend, B. La Du, J.R. Fouts, J.R. Gillette és mások közreműködésével). Kimutatták hogy a lipofil molekulák oxidatív átalakulásának szubcelluláris színtere a májsejt endoplazmás retikuluma, a mikroszóma frakció. Brodie laboratóriuma a xenobiotikum biotranszformáció kutatás (farmakológiai irányú) klasszikus iskolájává vált.

A.H. Conney, J.A. Miller és E.C. Miller (Wisconsin) megfigyelték, hogy policiklikus aromás szénhidrogének csökkentik más (pl. benz(a)pirén, aminoazofestékek) rákkeltő hatását. Felfedezték, hogy a jelenség oka a karcinogén fokozott, gyorsabb metabolizálása: nő a májban a mikroszómális enzimrendszer metabolizáló aktivitása. Bebizonyították, hogy a policiklikus aromás szénhidrogének de novo enzimszintézist indukálnak (1956-1957).

H. Remmer (Tübingen) barbiturát tolerancia tanulmányozása során nagyon hasonló megfigyelést tett: a barbiturátok is indukálják a májban a mikroszóma frakcióhoz kötött enzimrendszert, csökkentik más farmakonok hatástartamát, gyorsítják eliminációjukat (1958-). H.R. Mason (Portland) illetve O. Hayaishi (Osaka) megállapították, hogy az enzimrendszer egy atom (légköri) oxigént épít be a szubsztrát molekulába. A fogalom (mixed function oxidase ill. monooxygenase) akkor teljesen új volt.

1955-ben B. Chance laboratóriumában G.R. Williams egy sajátos spektrumot adó pigmentet figyelt meg máj mikroszóma preparátumban. A dithionittal redukált, szénmonoxiddal kezelt mikroszóma preparátum intenzív elnyelést mutatott 450 nm-nél. A megfigyelést nem közölték, a jelenséget M. Klingenberg vizsgálta tovább. A szénmonoxid-kötődés a kromofór részben nehézfém ion jelenlétét sugallta, bár a spektrum nem utalt semmi ismert színes metalloproteinre. D. Garfinkel szolubilizálni próbálta a "mikroszómális, szénmonoxid-kötő pigmentet" - eredménytelenül: pankratin és kolát hatására az abszorpciós sáv eltűnt. 1962-ben T. Omura és R. Sato (Osaka) bizonyították, hogy a szokatlan elnyelési spektrum cytochromtól ered, a jellegzetes α - és β -sávok, az intenzív abszorpció a Soret-régióban (etilizocianiddal) a pigment hemoprotein jellegét igazolta. Omura-tól és Sato-tól származik a cytochrom P-450 elnevezés és a legelterjedtebb differencia-spektrofotometriás P-450 meghatározási eljárás leírása is (1964). H.R. Mason laboratóriumában (Portland) ugyanakkor elektron spin rezonancia módszerrel vizsgálták máj mikroszóma preparátumokat és egy új, jellegzetes abszorpciót találtak ($g_m=2,25$); ebből alacsony spin-állapotú Fe^{3+} hemoprotein jelenlétére következtettek ("microsomal Fe_x "). T. Yamano munkacsoportja mutatta ki később, hogy a Fe_x és a P-450 azonos.

Bár a cytochrom P-450-et először máj mikroszómákban találták meg, működésüket D.Y. Cooper és O. Rosenthal mellékvesekéregben igazolták. Ezután fotokémiai akcióspektrum módszerrel

demonstrálták a cytochrom P-450 szerepét az acetanilid, benz-(a)pirén, kodein és aminopyrin oxidációjában. Ismertté vált, hogy a cytochrom P-450 a testidegen anyagokat metabolizáló májenzim rendszer terminális oxidáza, szubsztrát kötő helye, a molekuláris oxigén aktivátora, indukálható enzim.

R. Kato (Tokyo) in vivo és in vitro vizsgálatai a PSMO indukciójának legkülönbözőbb farmakológiai vonatkozásait tárgyalták fel a központi idegrendszerre ható vegyületek metabolizálásától a tumor-távolhatásokig (1961-).

1967 végén jelent meg A.H. Conney review cikke - ma már citációs klasszikus (Garfield, ISI) - az enzimindukció farmakológiájáról: gyógyszerek hatástartama és hatáserőssége nagyrészt attól függ, milyen gyorsan metabolizálják a máj mikroszómák. A mikroszomális biotranszformáció nagy adaptív plaszticitása az indukálhatóság következménye.

H. Selye 1969-ben kapcsolódott be a terület kutatásába, megalkotta a katatoxikus steroidok fogalmát, nagyon sok szintetikus szteroidot vizsgált meg, s beillesztette az indukálható májenzim rendszert adaptációs koncepciójába. 1971-ben kitűnő, két kötetes monográfiát publikált *Hormones and Resistance* címmel.

Az 1960-as évek végén már kétszáznál több, a legkülönbözőbb kémiai szerkezetű és biológiai hatású vegyület volt ismert, amelyek mind indukálják a mikroszomális monooxigenáz rendszert, nagy többségük a májsejtek síma felszíni endoplazmás retikulumának proliferációját váltja ki (H. Remmer 1963, J.R. Fouts 1965).

Az indukáló vegyületek szerkezet-hatás aspecifikussága ekkoriban még érthetetlen volt: az egyetlen közös vonás: az indukáló vegyületek fiziológiás pH-n nem oldódnak vízben. 1966-ban G.J. Mannering mutatta ki, hogy egynél több fajta cytochrom P-450 létezik, s ezek mind spektrális tulajdonságaikban, mind szubsztrát specificitásukban különbözőek.

Az 1960-as években indulnak meg a klinikai kutatások is ezen a téren. Megállapítják, hogy a cytochrom P-450 emberben is indukálható, a biotranszformáló enzimszisztéma aktivitása és az in vivo gyógyszermetabolizálás üteme között szoros az összefüggés, váratlan gyógyszer kölcsönhatásokról jelennek közlemények, leírják az első terápiás reményeket az indukáló vegyületek alkalmazásával (még sok a mellékhatás).

D.W. Nebert laboratóriumában (Bethesda) az 1970-es évek elején kezdődtek el azok a kutatások, amelyek az Ah lokusz felfedezéséhez vezettek. Az Ah lokusz génterméke az Ah-receptor: indukáló vegyülettel képződő komplexe lép kapcsolatba a mag DNS-el és nonhisztón proteinjével. Nebert eredményei az indukció kialakulásának mechanizmusát és genetikai szabályozását világítják meg.

A PSMO extrahepatikus előfordulása (szteroid termelő endokrin mirigyek, placenta, bél, bőr, tüdő, vese, érfal, agy, thrombocyták) és kimutatása alacsonyabb rendű szervezetekben (rovarokban, növényekben, mikroorganizmusokban) tarthatatlanná tették korábbi teleologikus elképzeléseket. Kiderült, hogy a cytochrom P-450 igen régi enzim, szerepe lehetett az evolúcióban is (reaktív metabolitok, mutációk: R.H. Wickramasinghe 1975).

"Szilánkok" a jelenből és a közeljövőből

Az utóbbi években közölt adatok nehezen kezelhető tömeget képeznek, s egy rövid összefoglalásban csak önkényesen lehet kiválasztani és megvilágítani azokat a pontokat, amelyek történeti érdekességűek, és talán hatásuk lesz a fejlődésre.

Az eredményes szolubilizálás és immunológiai vizsgálatok máris igazolták, hogy legalább 6-20 cytochrom P-450 izoenzim létezik és működik. Ezek aminosav összetétele különböző, szubsztrát specificitásuk is eltérő (bár átfedő).

Az enzimműködés regulációjának megismerésében a rekombináns DNS-technika, a P-450 indukció receptor mechanizmusainak kutatása, tumorokban előforduló egyedi P-450 formák, monoklo-

nalis P-450 antitestek vizsgálatától, új elválasztási technikáktól, új indukáló vegyületek alkalmazásától várhatók eredmények.

Ugyanabból a szubsztrátból különböző eredetű redukáló ekvivalensek hatására különböző metabolitok képződnek: a keletkezett, DNS sérülést okozó, de kovalens kötésbe nem kerülő szabadgyök(ök) szerepének tisztázása a közeljövő kutatási feladatának tűnik.

Konstitutív monooxigenázok, hormonális szabályozású P-450 típusok vizsgálata endokrin és nem endokrin szövetekben, a P-450 szerepének a teratogenezisben, továbbá a prevenció és therápia lehetőségeinek tanulmányozása példák a legérdekesebbnek tartott problémákból.

A poliszubsztrát monooxigenáz rendszer - érdekessége és gyakorlati jelentősége dacára - a magyar orvosi-biológiai kutatás éraeklődésén eléggé kívül esik. Bár e rendszer tanulmányozása jelenleg a világban a növekedés stádiumában van, a szakirodalom ismeretében, az új kutatási információk birtokában viszonylag szerény technikai feltételek között is eredményesen művelhető terület, megérdemli Olvasóink figyelmét.

Szeberényi Szabolcs

A HUMAN TROMBOCITÁK VIZOLDHATÓ FRAKCIÓJÁBAN TALÁLHATÓ
IgG-HEZ ÉS MIOZINHOZ KÖTŐDŐ FEHÉRJE VIZSGÁLATA*

Az immunválasz során képződő, antigénből és ellenanyagból álló komplexek megfelelő receptorok révén különböző sejtféleségekhez kötődhetnek. Azokat a membránstrukturákat, amelyek a komplexben lévő (ritkábban a szabad) immunoglobulin molekulák Fc részével specifikus kölcsönhatásba tudnak lépni, Fc receptoroknak nevezzük. IgG-t kötő Fc receptorok számos sejttípuson előfordulnak, pl. limfocitákon, makrofágokon, tumorsejteken és nem utolsósorban tromboцитákon. A mosott tromboцитák immunkomplexek hatására aggregálódnak és vazoaktív aminok szabadulnak fel belőlük. Ezt a hatást főemlősök esetében az IgG-Fc receptorok közvetítik. Napjainkra ugyyszólván általánosan elfogadottá vált, hogy a sejtmembrán külső felszínén elhelyezkedő fehérjekomponensei - köztük valószínűleg az Fc receptorok is - összeköttetésben állhatnak a citoskeleton aktin - miozin típusú fehérjekomplexumával.

Az ELTE Gödi Biológiai Állomásának Immunológiai Csoportjában hosszabb ideje foglalkoznak különböző sejtek Fc receptoraival kapcsolatos kutatásokkal, az ELTE Biokémia Tanszékén pedig az izomfehérjék biokémiai vizsgálatának vannak nagy hagyományai. Így módunk volt arra, hogy egy együttműködés keretében megvizsgáljuk, hogyan viselkednek a tromboцитák és a limfociták Fc receptorai az aktin - miozin rendszerrel való kölcsönhatás szempontjából. Itt a tromboцитákra vonatkozó eredményekről számolunk be.

A glicerines lizissel feltárt humán tromboцитák vizoldható frakciójában kimutatható egy, az IgG Fc részével reagáló fehérje. Ez a fehérje nem kötődik sem az IgG Fab részéhez, sem az IgM-hez és gátolja a humán limfociták Fc receptor-függő funkcióit. Feltételezhető, hogy ez a vizoldható frakcióban előforduló, Fc receptor aktivitásu anyag a membránban elhelyezkedő receptor citoplazmatikus poolját képviseli, vagy a preparálás során vizoldható frakcióba kerülő perifériás membránfehérje (1). Mivel azonban a membránbeli receptorral való kapcsolata nem tisztázott, a pontosság kedvéért nem Fc receptornak, hanem IgG-kötő fehérjének nevezzük.

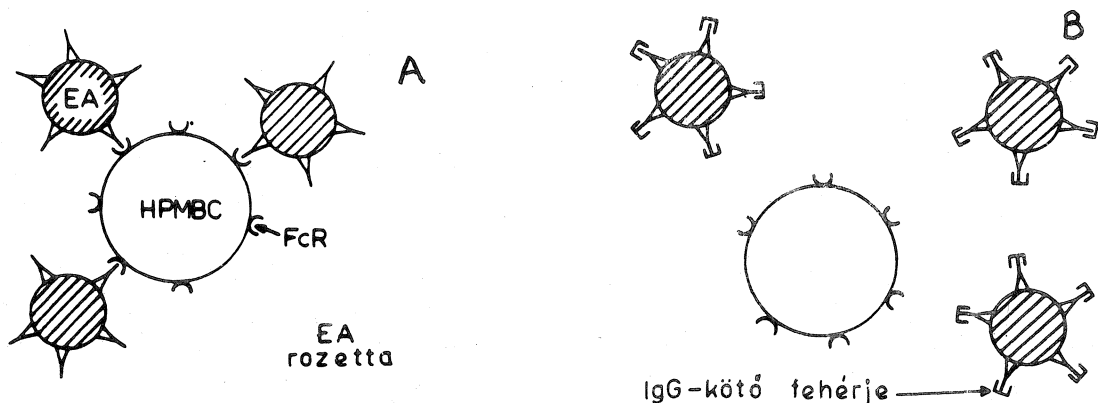
Az IgGkötő fehérje detektálása

Az Fc receptorok kimutatásának viszonylag egyszerű és érzékeny módszere az EA rozettaképzés vizsgálata, amelynek elve a következő:

* Tankó Béla emlékelőadás, 1981.

Szarvasmarha vörösvértesteket nyul anti-vörösvértest IgG-vel fedve (EA = eritrocita + antitest) immunkomplexeket hozunk létre. Ha ezeket Fc receptorokat hordozó sejtekkel hozzuk össze, akkor az EA komplexek az IgG Fc részén keresztül az Fc receptorral rendelkező sejtekhez kapcsolódnak. Így jönnek létre az u.n. rozetták (1A ábra). Mikroszkóp alatt megszámlálva a rozettát képző ill. nem képző sejteket, általában a rozettát képző sejtek %-os arányát adják meg. (Esetünkben az Fc receptoros sejteket a tulnyomó részben limfocitákból álló humán perifériás mononukleáris vérsejt preparátum képviseli)

Az IgG-kötő fehérje kimutatására viszont az ad módot, hogy ez (illetve bármilyen más szolubilis, Fc receptor aktivitású anyag is) gátolja a humán limfociták EA rozetta képzését. Ennek mechanizmusát az 1B ábra mutatja. A kísérlet során úgy járunk el, hogy a vizsgálandó oldatot az EA-hoz adjuk, ekkor a benne lévő Fc receptor aktivitású anyag hozzákötődik a nyul IgG Fc részéhez. Az így előkezelt EA-hoz adva limfocitákat nem alakulnak ki rozetták (ill. a kontrollhoz képest a limfocitáknak kisebb %-a képez rozettát), mivel az IgG-n az Fc receptor kötőhelye már foglalt.



1. ábra

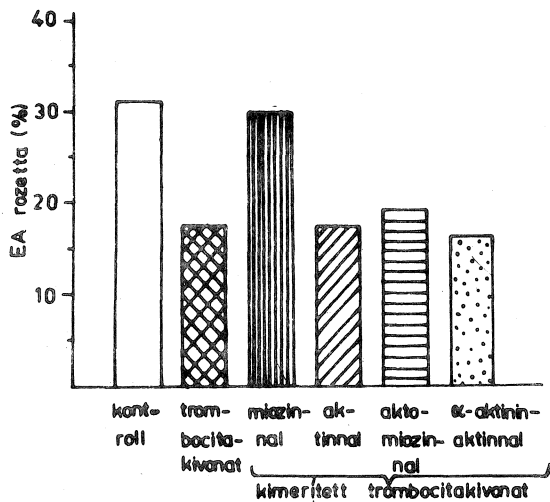
A: A humán perifériás mononukleáris vérsejtek (HPMBC) EA rozetta képzése (FcR = Fc receptor)

B: Az EA rozetta képzés gátlása az EA-hoz adott IgG-kötő fehérjével

Létrejöh-e kölcsönhatás az aktin, miozin, aktomiozin vagy α -aktinin - aktin komplex és az IgG-kötő fehérje közt?

A miozin, aktomiozin és az α -aktinin - aktin komplex esetében a Koch és Smith által leirt "miozin affinitási technika" alkalmazásával próbáltunk választ kapni e kérdésre (2). Röviden: a trombociták vizoldható frakcióját (továbbiakban: trombocitakivonat) 10 mM Tris - HCl (pH 7,5) és 30 mM KCl jelenlétében hozzáadtuk a fenti fehérjéhez, amelyek ilyen körülmények között nem oldódnak. Egy órás inkubá-

lás után az említett izomfehérjéket az esetleg hozzájuk kötődött trombocitakomponensekkel együtt 1300 g-s, 20 perces centrifugálásal eltávolítottuk az oldatból. Azt vizsgáltuk, hogy a kapott felüluszó gátolja-e a limfociták EA rozetta képzését. Az aktin esetében nem követhettük pontosan ezt a módszert, mert a vázizom aktin (kísérleteink során ugyanis nyul vázizomból preparált kontraktilis fehérjéket használtunk) a fenti körülmények között is oldatot képez. Azonban a vázizom aktin 50 mM KCl és 2 mM MgCl₂ jelenlétében filamentek, u.n. F aktin formájában van jelen, ez pedig 2 órás, 10⁵ g-sel végzett centrifugálással kiülepíthető. Tehát az aktinnal úgy "merítettük ki" a trombocitakivonatot, hogy 50 mM KCl és 2 mM MgCl₂ jelenlétében kevertük össze őket és a 2 órás, 10⁵g-s centrifugálás felülusóját vizsgáltuk a rozetta tesztben. A 2. ábra egy reprezentatív kísérlet eredményeit mutatja, az értékek szórása 2-3 %.



2. ábra

Az izomfehérjékkel végzett "kimerítés" hatása a trombocitakivonat EA rozetta gátló aktivitására

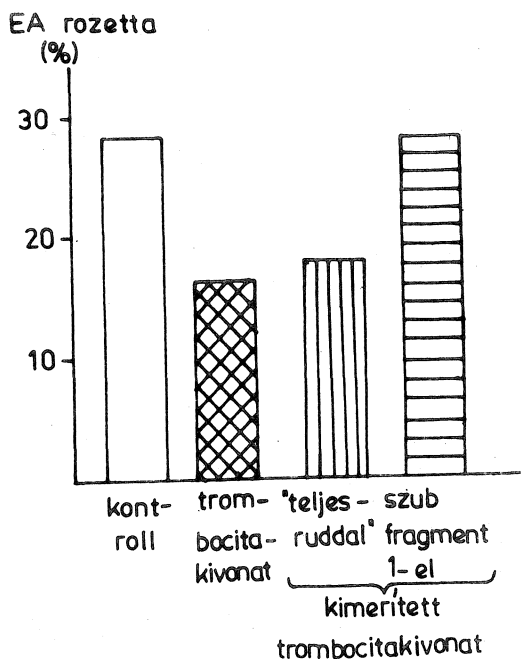
Mint látható, a miozinnal "kimerített" trombocitakivonat elveszti EA rozetta gátló aktivitását, ami azzal magyarázható, hogy a miozin megkötötte az IgG-kötő fehérjét. A többi izomfehérje azonban nem távolította el az EA rozetta gátlásáért felelős IgG-kötő fehérjét.

A miozin molekulának mely része lép kölcsönhatásba az IgG-kötő fehérjével?

A miozin molekula két globuláris, ATP-áz aktivitással és aktinkötő képességgel rendelkező "feje", a két szubfragment 1 (S1) proteolitikus uton elválasztható a molekula helikális, "teljes rud" nevű részétől. Izolált S1 és teljes rud alkalmazásával megkíséreltük lokalizálni a miozinon belül az IgG-kötő fehérje kapcsolódási helyét.

A teljes rud alacsony ionerősségen éppúgy oldhatatlan, mint a

szülőmolekula, ezért ugyanolyan "kimerítési" kísérletet végezhattunk vele, mint a miozinnal. Az S1 azonban alacsony ionerősségen, sőt desztillált vízben is oldódik, és emiatt az esetleg kialakuló S1 - IgG-kötő fehérje komplex egyszerű módszerrel nem távolítható el az oldatból. Ezért az S1 hatását úgy vizsgáltuk, hogy e fehérjét 0,15 M NaCl jelenlétében hozzáadtuk a trombocitakivonathoz és e keverék hatását vizsgáltuk a limfociták EA rozetta képzésére. Az eredményeket a 3. ábra mutatja.



3. ábra

A miozin proteolitikus fragmentjeinek hatása a trombocitakivonat EA rozetta gátló aktivitására

Mint a 3. ábrán látható, a teljes ruddal végzett "kimerítés" nem befolyásolja a trombocitakivonat EA rozetta gátló aktivitását, az S1 és a trombocitakivonat keverékének viszont nincs gátló hatása. (Természetesen kontroll kísérletben igazoltuk, hogy az S1 önmagában nem befolyásolja a limfociták EA rozetta képzését.) Megállapíthatjuk tehát, hogy az IgG-kötő fehérje a miozin S1 részletéhez kötődik. E kísérletből az is kiderült, hogy az IgG-kötő fehérje nem kapcsolódik egyidejűleg a miozinhoz és az IgG-hez.

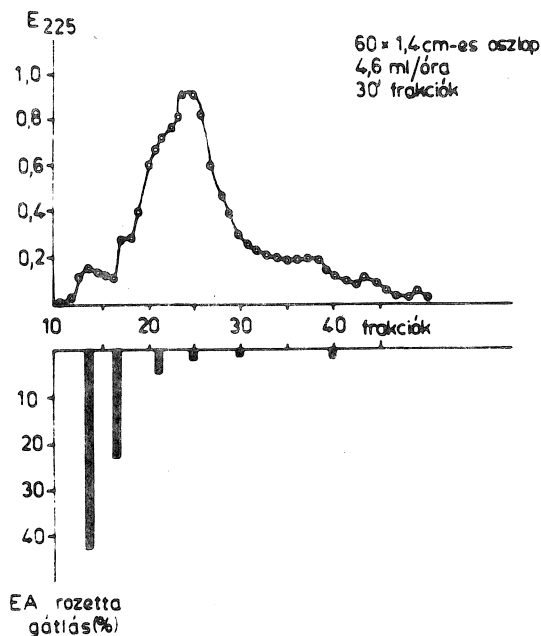
Azonos-e az IgG-kötő fehérje az aktinnal?

Annak alapján, hogy az IgG-kötő fehérje miozinhoz ill. S1-hez kapcsolódik, de aktomiozinhoz nem, kézenfekvőnek látszott az a gondolat, hogy az IgG-kötő fehérje aktin vagy egy olyan komplex, amelynek az egyik tagja aktin - ennek révén kötődhet a miozinhoz - és az aktinhoz kapcsolódik közvetlenül vagy közvetve az IgG megkötéséért felelős alegység. Lényegében az utóbbihoz hasonló jelenségről számoltak

be Koch és munkatársai a H2 antigén és a felszíni Ig esetében (2,3). Azon szerzők eredményei, akik az aktin és az IgG közti kölcsönhatást igazolják ill. egy 45 000 molekulasúlyú sejtfelszíni komponensnek tulajdonítanak Fc receptor aktivitást (5) (az aktin molekulasúlya 42 000), szintén alátámasztják ezt a gondolatmenetet. További kísérleteinkben az aktin és az IgG-kötő fehérje azonosságának vagy kapcsolatának kérdését kívántuk tisztázni.

Mint láthattuk (2. ábra), amikor a trombocitakivonatból megfelelő centrifugálással eltávolítottuk az F aktint (a hozzáadott vázizom aktinnal együtt természetesen a trombocitakivonat saját F aktin tartalmát is!), a trombocitakivonat EA rozetta gátló aktivitása - azaz az IgG-kötő fehérje tartalma - nem csökkent, tehát az IgG-kötő fehérje nem azonos az F aktinnal.

A trombocitakivonatot Sepharose 6B oszlopon gélszűrve azt tapasztaltuk, hogy a rozetta gátló hatás - tehát az IgG-kötő fehérje - a kizáródó frakcióban eluálódik (4. ábra), ez pedig azt bizonyítja, hogy molekulasúlya lényegesen nagyobb a G aktin 42000 -es molekulasúlyánál. Így kizártnak tarthatjuk az IgG-kötő fehérje és a G aktin azonosságát is.

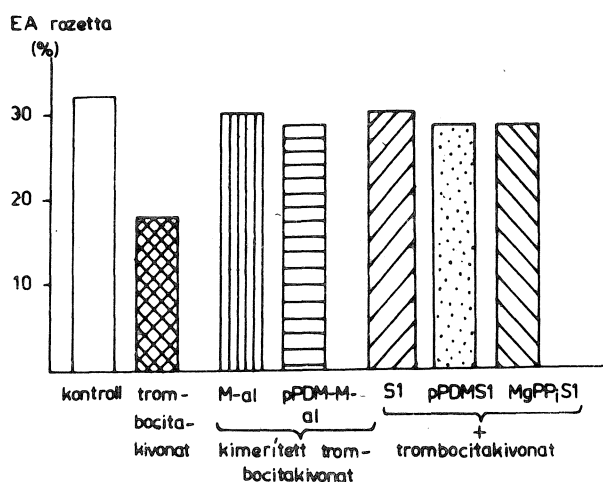


4. ábra

A trombocitakivonat gélszűrése
Sepharose 6B-n

A p-feniléndimaleimid (pPDM) olyan bifunkciós tiolreagens, amely ADP jelenlétében a miozin két funkcionális szempontból jelentős SH csoportja között kereszt kötést létesít, és ennek eredményeképpen a miozin elveszti ATP-áz aktivitását és nem köt aktint sem (6). Ebből adódik, hogy amennyiben a pPDM-mel módosított miozin vagy S1 megköti a trombocitakivonat IgG-kötő fehérjéjét, akkor az minden valószínűség szerint nem aktinon keresztül kapcsolódik a miozinhoz.

Ha a trombocitakivonatot 10 mM Mg pirofoszfát jelenlétében hozzuk össze az S1-gyel, akkor szintén választ kaphatunk arra a kérdésre, hogy az IgG-kötő fehérje az aktin révén kapcsolódik-e a miozinhoz. A Mg pirofoszfát ugyanis az aktomiozin komplexet komponenseire diszszociáltatja, amennyiben viszont az IgG-kötő fehérje - miozin kapcsolatot nem befolyásolja, az arra mutathat, hogy ez nem aktin - miozin jellegű kölcsönhatás. A kísérletek eredményét az 5. ábrán mutatjuk be.



5. ábra

A pPDM módosítás ill. 10 mM Mg pirofoszfát hatása az IgG-kötő fehérje - miozin kölcsönhatásra

(M:miozin, MgPP_i: Mg pirofoszfát)

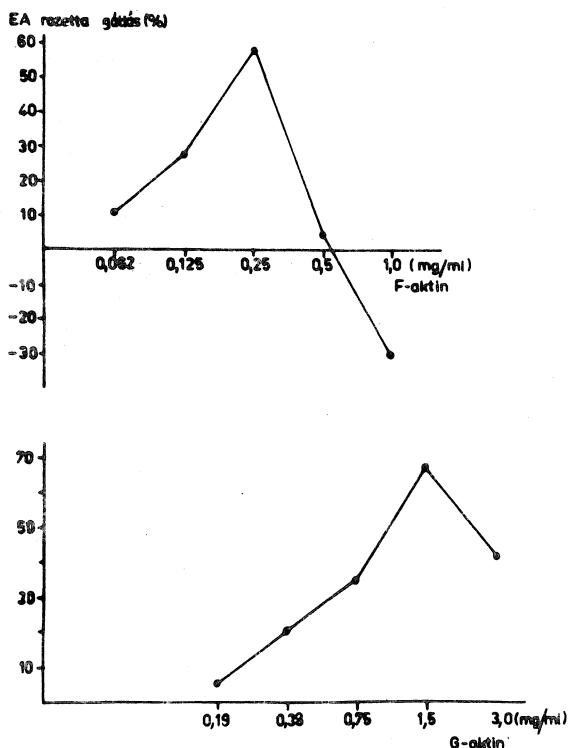
Mint az 5. ábrán látható, a pPDM-mel módosított miozin hatása nem tér el a nem módosított miozintól (mindkettő megköti az IgG-kötő fehérjét) és nincs különbség a pPDM-S1 és a módosítatlan S1 hatása közt sem (a trombocitakivonathoz adva mindkettő felfüggeszti az EA rozetta képzés gátlását). A Mg pirofoszfát nem bontja meg az IgG-kötő fehérje és az S1 kölcsönhatását. Ebből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az IgG-kötő fehérje nem aktin és nem is aktin közvetítésével kapcsolódik a miozin "feji" részéhez. Az azonban elképzelhető, hogy a miozinon lévő kötőhelyeik egymás közelében vannak, így az aktin által okozott sztérikus gátlás magyarázhatja, hogy miért nem kapcsolódik az IgG-kötő fehérje az aktomiozinhoz. Természetesen a miozinban az aktinnal való kölcsönhatás által előidézett konformáció változás is "eltüntetheti" az IgG-kötő fehérje kapcsolódási helyét.

A tisztított vázizom aktin hatása a limfociták EA rozetta képzésére

Bár felsorolt eredményeink véleményünk szerint elég meggyőzően cáfolják az aktin és az IgG-kötő fehérje azonosságát, mégsem tartottuk feleslegesnek, hogy megvizsgáljuk, hogy a tisztított vázizom aktin gátolja-e a limfociták EA rozetta képzését. E vizsgálatot egy-

részt a már említett, az aktin és az IgG kapcsolódására vonatkozó irodalmi adatok (4,5), másrészt az, hogy egyes kísérleteinkben (pl az aktinnal végzett "kimerítés" alkalmával) óhatatlanul bevittük a rozetta tesztbe a trombocitakivonathoz adott vázizom aktin egy részét is.

Bár a vázizom aktin kísérleti körülményeink között ugyszólván teljes egészében F állapotú, a nem izom sejtek aktintartalmának jelentős része ilyen közegben is megtartja G, vagy legalábbis nem F állapotát. A sejtek fiziológiai állapotának megváltozása viszont együtt járhat a bennük lévő aktin jelentős részének polimerizációjával (7). Ezért vizsgáltuk az F és G aktin rozettaképzésre gyakorolt hatását is. A vázizom aktinból 5-diazonium-1H-tetrazollal végzett kovalens módosítás segítségével készítettünk a fiziológiás ionerősség mellett sem polimerizáló aktint (8). A 6. ábra mutatja, hogy hogyan hat a G és F aktin a humán limfociták EA rozetta képzésére.



6. ábra

Az aktin hatása a humán limfociták EA rozetta képzésére

Mint látható, bizonyos, viszonylag szűk koncentráció tartományban mind a G, mind az F aktin gátolja a limfociták EA rozetta képzését, azaz ebben a tekintetben Fc receptor szerű aktivitást mutat. A korábban részletezett kísérleteink során általunk bevitt aktin koncentrációja azonban sohasem érte el a gátláshoz szükségeset, így nem kaptunk műtermékként gátlást. Itt külön nem ismertetett mérésekkel meghatároztuk a trombocitakivonat saját aktin tartalmát is, de ennek koncentrációja is kisebb annál, hogysem a 6. ábra görbéi alapján a trombocitakivonat EA rozetta gátló aktivitásáért felelős lehetne.

Igy ismét egy, az aktin és az IgG-kötő fehérje azonosságát cáfoló közvetett bizonyítékhoz is jutottunk. Az F aktin 0,7 - 1,0 mg/ml töménységű oldata növeli az EA rozettát képző limfociták %-os arányát. Ennek magyarázata egyrészt az ilyen koncentrációju F aktin nagy viszkozitása lehet, de nem kizárt, hogy ez a jelenség analóg a Fehheimer és mti. által leirt megfigyeléssel, amely szerint az aktin fokozza az IgG2 citofil aktivitását (4). (Hasonló vizsgálatot végeztünk S1-gyel és α -aktininnal is, ezek a fehérjék azonban semmilyen hatással nem voltak a limfociták EA rozetta képzésére.)

Azonos lehet-e az IgG-kötő fehérje a tubulinnal?

Miután az IgG-kötő fehérje és az aktin azonosságát kizártuk, felvetődött, hogy nem lehet-e viszont a tubulin az IgG-kötő fehérje. Tudniillik a trombociták is tartalmaznak tubulint, amelynek sajátosságai sok tekintetben hasonlóak az IgG-kötő fehérje tulajdonságaihoz. Alegységsulya 55 000, a Cheng és Hawiger által trombocitamembránból izolált Fc receptor aktivitásu glikoproteidé 50 000 (9), a tubulin 0°C-on több tagu, gyűrű alakú asszociátumokat képez, amelyek -az IgG-kötő fehérjéhez hasonlóan - Sepharose 6B-ből kizáródnak és 10⁵g-vel 2 órán át centrifugálva nem ülepthetők ki. Legvonzóbbá azonban az tette számunkra a tubulin és az IgG-kötő fehérje azonosságának lehetőségét, hogy a tubulin is kötődik miozinhoz, mégpedig valószínűleg az S1 részhez (10). Az általunk sertés agyból izolált tubulin azonban nem gátolta a limfociták EA rozetta képzését, azaz nem mutatott Fc receptor aktivitást.

Az IgG-kötő fehérje izolálása

Megkíséreltük az IgG-kötő fehérjét Sepharose-hoz kapcsolt aggregált IgG-n végzett affinitás kromatográfia segítségével izolálni. A nem kötődő frakció kimosása után 2M KBr-dal végzett elucióval (9) kaptunk Fc receptor aktivitásu anyagot, melynek gélelektroforézises képén egy 70 000 alegységsulyu fehérje volt látható.

Összefoglalva: Megállapítottuk, hogy a trombociták vizoldható frakciójában előforduló, IgG-Fc-hez kötődő fehérje képes a miozin globuláris részletéhez, feltehetőleg az aktin kötőhelye közelébe, kapcsolódni. Az IgG-kötő fehérje nem kapcsolódik egyidejűleg a miozinhoz és az IgG-hez. Az IgG-kötő fehérje nem azonos sem az aktinnal sem a tubulinnal. Alegységsulya 70 000.

Mindezidáig kérdéses, hogy a miozin - IgG-kötő fehérje kapcsos-

lat in vivo fennáll-e, és ha igen, akkor mi a jelentősége. A legtöbb esetben a receptorokhoz kapcsolódó aktinnak/aktomiozinnak tulajdonított szerep a receptor "horgonyzása" vagy mozgatása a membrán síkjában. Itt azonban valószínűleg ilyenről nincs szó, hiszen a miozinhoz kapcsolt IgG-kötő fehérje elveszti receptor aktivitását.

Kísérleteink értelmezésével kapcsolatban felvethető az a probléma, hogy munkánkban a trombociták IgG-kötő fehérjéjét nyul vázizomból preparált aktinnal hasonlítottuk össze. A vázizom aktin és a nem-izom aktinok hasonlósága azonban aminosav sorrend ill. biológiai tulajdonságok (polimerizáció, miozinhoz történő kötődés, ATP-áz aktiválás) tekintetében igen mélyreható (11), ezért ezt az eljárást jogosnak tartjuk.

Mint a bevezetőben említettük, hasonló vizsgálat sorozatot végeztünk a limfociták Fc receptoraival is, ott azonban egészen más eredményre jutottunk. A limfociták Fc receptora ugyanis csak az aktomiozinhoz kötődik és e kötődés következtében a receptor sajátságai megváltoznak. Ugy gondoljuk tehát, hogy az általunk alkalmazott módszer, amellyel az Fc receptorok és az aktin - miozin rendszer kapcsolatát vizsgáltuk, alkalmas lehet hasonló funkciójú, de eltérő szerkezetű és eredetű receptorok összehasonlítására.

Jancsó Ágnes Uher Ferenc

Irodalom

1. Sándor Mátyás Doktori értekezés, 1979.
2. Koch, G.L.E., Smith, M.J. Nature 273:274. 1978.
3. Flanagan, J., Koch, G.L.E. Nature 273:278. 1978.
4. Fechheimer, M., Daiss, J.L., Cebra, J.J. Mol. Immunol. 16:881, 1979.
5. Cooper, S.M., Sambray, Y., Frion, G.J. Nature 270:253. 1977.
6. Reisler, E. J.Mol.Biol. 138:93. 1980.
7. Fox, J.E.B., Phillips, D.R. Nature 292: 650. 1981.
8. Bender, N., Fasold, H., Kenmoku, A., Middelhof, G., Wolk, K.E. Eur. J. Biochem. 64:215. 1976.
9. Cheng, C.M., Hawiger, J. J.Biol.Chem. 254:2165. 1979.
10. Hayashi, M., Ohnishi, K., Hayashi, K. J.Biochem. 87: 1980.
11. Gordon, D.J., Boyer, J.L., Korn, E.D. J.Biol.Chem. 252:8300. 1977.

—FIGYELŐ—

Trends in Biochemical Sciences

T A L L Ó Z Á S a T I B S LAPJAIN /1981 április - december/

Miután az ember legkevésbé alkalmas biokémiai kísérletek elvégzésére, így a reá vonatkozó metabolikus specifikumokról tudunk legkevesebbet. H.J.SEITZ felteszi a kérdést a lap szerkesztőségének az áprilisi számban, hogy hogyan állunk az embernél az esszenciális zsírsavak tényleges szükségletével. W.M.F.LEAT válaszol és bár főleg állatkísérletekre hivatkozik, válaszában vannak emberre vonatkozó adatok is. Mivel a prosztaglandinokra is számos hivatkozás történik a rövid, de alapos áttekintést adó cikkben, így melegen ajánljuk mindazoknak a kollégáknak, akik a zsírsavcsere élettani megklinikai problémái iránt vagy koagulációs kórozetekkel összefüggő vonatkozásai iránt érdeklődnek.

Ugyanebben a füzetben találjuk E.BEUTLER kissé futurisztikus cikkét az enzimterápia /enzimpótlás/ lehetséges jövőjéről.

Mindössze három olyan enzimet - pontosabban enzimcsaládot - ismerünk, amelyek négy-elektronos dehidrogenálást végeznek piridintartalmu koenzimokkal. Ezeknek a családoknak a tagjai azonban - filogenetikailag bármilyen távoliak legyenek is - figyelemreméltó hasonlóságokat mutatnak az alegység-szerkezet és aktiv centrum szempontjából. Ezekre az univerzalitásokra hívja fel a figyelmet D.S. FEINGOLD és J.S. FRANZEN cikke.

A szakirodalomban egyre több adat lát napvilágot a poliaminok / putrescin, spermidin és spermin / képződéséről és anyagcseréjéről, igazi funkciójuk azonban a legtöbb nem specialista számára egészében ismeretlen. A.K. ABRAHAM és A.PHIL rendkívül szimpatikus

és érthető módon - minden hipotézis és teória mellőzésével - ismertetik azokat a kísérleti tényeket, amelyek ezeknek a vegyületeknek a replikációra, transzkripcióra és translációra kifejtett stimuláló hatását bizonyítják.

A multifunkciós fehérjék közül talán legtöbbet tudunk a ligandinról. Ennek a májban, vesében és vékonybélben előforduló, mindössze 10 éve ismert fehérjének rendkívül változatos funkcióit / katalitikus, kötő, stb. / M.M.BARGHAVA és I.M.ARIAS izgalmasan és sokoldalú módon mutatják be a májusi füzetben.

A fotoszintézis egységes kémiai koncepciója kb. 50 évvel ezelőtt született meg, amikor a hollandiai származású van NIEL munkái nyomán sikerült megformulálni azt a kémiai egyenletet, amely mai ismereteink szerint is pontosan leírja minden ismert fotoszintetizáló szervezet fényreakciójának lényegét. Ennek a hollandiai Delftben elkezdett és Kalifornia Csendes óceáni partjain folytatott életműnek rövid történetét olvashatjuk a júniusi füzet „50 éve történt” című rovatában H.KAMMINGA tollából.

Néha a tudomány körül, annak világnézeti és politikai konzekvenciái miatt heves viták dőlnek. A júliusi szám vezércikkében egy elkeseredett amerikai kolléga, T.H.JUKES amiatt bosszankodik, hogy az Egyesült Államokban bizonyos erőknek sikerült keresztülvinniük, hogy a középiskolai tankönyveket a teremtés-elmélet szellemének megfelelően írják, biológia helyett bibliát tanítanak és Darwin munkáit ugyyszólván meg sem említik.

A magasabbrendű növényekben zajló zsírsavszintézisnek van néhány jellegzetessége, ami elsősorban a kompartmentalizációra vonatkozik. Itt a zsírsavszintézis zömmel külön organellekben bonyolódik: A zöld levelek kloroplasztjaiban és a magvak proplasztidjaiban. A szintézis kémiai sémája megegyezik az általános tapasztalattal, viszont a növényi zsírsavszintetázok természetéről nagyon keveset tudunk. P.K.STUMP nagyon értékes összefoglalást nyújt a növényi zsírsavakról és cikke a világ növényi olajtermelése szempontjából is világgazdaságilag értékes adatokat tartalmaz.

A biokémia története szempontjából igazán érdekes és tanulságos az ureáz-história. 1926-ban közölte J.B.SUMNER, hogy a Canavalia

ensiformisból sikerült előállítani a kristályos ureázt, és hogy ez egy egyszerű fehérje. Az akkor már nagyon ismert és nagytekintélyű WILSTATTER több fórumon csúnyán megtámadta az akkor még nem nagyon ismert amerikai vegyészt, mondván, hogy az enzimek nem fehérjék, hanem csak a fehérjékhez adszorbeálódó kismolekulasúlyú anyagok. Az ezzel meginduló és több évig tartó szenvedélyes küzdelem részleteiről tudósít C.F.CORI hihetetlenül jó, lebilincselő irásával. / Ezzel kapcsolatban megemlítem, hogy a Canavalia ensiformis magyarul nem szójababot jelent, mint ahogyan egyes magyar tankönyvirők tévesen képzelik. /

Alton MEISTER néhány év óta meg akarja győzni a világot arról, hogy a glutation biológiai szerepe sokkal nagyobb, mint ahogyan azt mi eddig hittük róla és hogy a gamma-glutamil-ciklus nagyon nagy jelentőségű anyagcserefolyamat. Erről ő az elmúlt évtizedben számos cikket és könyvfejezetet írt már, most pedig a TIBS szeptemberi számában közöl egy 3 oldalas dolgozatot. Ebben a háromoldalas műben kétségtelenül megtalálható a glutation minden ténylegesen bizonyított és feltételezett biológiai funkciója.

Hogyan lesz egy folyószennyezéssel kapcsolatos bírósági perből tudományos felfedezés? Az angol mikrobiológusnő M.STEPHENSON és L.H.STICKLAND 50 évvel ezelőtt egy ilyen botrányal kapcsolatban fedezték fel az Ouse és a Cam folyókban azokat a baktériumokat, amelyek hidrogenázokkal rendelkeznek. Ezek az enzimek képesek arra, hogy elemi hidrogénnel a szulfátot kénhidrogénné, a karbonátot pedig metánná redukálják. S.R.ELSDEN 3 oldalas jubileumi írása - a szeptemberi számban - mind a mikrobiológia, mind a biokémia történelmének egy nagyon szép szakaszát mutatja be a tudománytörténeti kutatás legmegbízhatóbb forrásaira támaszkodva.

Csaknem minden tankönyvben azt olvashatjuk, hogy a dehidrogenázoknak két családja van :

- 1/ A NAD/P/-vel működő piridin-dehidrogenázok és a
- 2/ Flavoproteinek.

Ez a bemutatás nagyon nem szép dolog a tankönyviróktól, miután 10 év óta ismeretes, hogy harmadik családként ott vannak a quinopro-

teinek. Igaz, hogy eddig csak prokariotákban találták meg őket, ezek között viszont legalább tucatnyi fajtában. Ezekről a dehidrogenázokról és koenzimjük kémiai természetéről szól J.A.DUINE és J.FRANK minden biokémikus számára melegen ajánlható összefoglaló tanulmánya az októberi számban.

A kérődzők száj- és körömfájás betegsége Ausztráliát és az Egyesült Államokat kivéve földünk minden országában még endémiás. A betegség kivédésére két módszert ismerünk : Az állatok kiirtását vagy az ammunizációt. A második megoldás legújabb biokémiai bravurját ismerteti F.BROWN a decemberi füzetben : Hogyan lehet a száj- és körömfájás vírusának specifikus antitestjét fermentációs uton E.coli sejtekben kitermelni ?

ALKONYI István

EGYESÜLETI ÉLET

Szerkesztő Bizottságunk levélben kereste meg január elején Egyesületünk szakosztályainak és szakcsoportjainak vezetőit : a BIOKÉMIA márciusi számának lapjain ismertessék Egyesületünk tagságával a közeli és távolabbi jövőre vonatkozó elképzeléseiket, a gondjukra bízott szakosztály, illetve szakcsoport feladatait és ezévi, valamint távlati munkaprogramját. Az eddig / határidőre / beérkezett terveket olvashatják az alábbiakban. /Fel.szerk./

A NEUROBIOKÉMIAI SZAKOSZTÁLY MUNKÁJÁRÓL

A Neurobiokémiai Szakosztály Vezetése a szakosztályi munkában olyan alapelvet követ, amelyben a forum-teremtés különböző témák megvitatására, a továbbképzés, a hazai-és nemzetközi tudományos életben való aktív közreműködés alapvető feladatnak számít. A vita-témák között elsősorban olyan kérdések szerepelnek, amelyek, mint biokémiai problémák alapvetően a központi idegrendszerre jellemzőek. Az 1982-évi programunkban három kiemelt téma kerül megbeszélésre:

" Transzport folyamatok a központi idegrendszerben"

" Neuronális fehérjék szerepe az agyi funkciókban"

" Opiátok és biogén aminok szerepe a hypothalamo-hypophysealis szabályozásban" címmel. Távlati célkitűzésünkben programba vettük még a " Pre-és posztzinaptikus elemek / vezikulumok, receptorok/ kialakulása az ontogenezis során " és a biológusok, fiziológusok bevonásával az " Aminerg mechanizmusok gerinc-teleneknél" c. témákat.

Az 1982-évi továbbképzési tervünkben szerepel egy 5-napos neurokémiai tanfolyam, amelynek témája az "Acetil-kolin"; helye a SZOTE Központi Laboratorium lesz Szegeden.

Igen fontosnak tartjuk az egyes témák gyakorlati vonatkozásait, így ezeknek a kérdéseknek a megbeszélését azokkal a szakemberekkel tervezzük, akik a gyakorlati kérdésekben utmutatással is szolgálhatnak. Jó kapcsolatot kívánunk kiépíteni az Egyesületen belül a "Gyógyszer-biokémiai" szakosztállal valamint közös vita-üléseket tervezünk a Magyar Farmakológiai Társaság Biokémiai-Farmakologia Szekciójával.

A hazai és a nemzetközi tudományos életben való aktív részvételt a szakosztály elsősorban a kongresszusi tájékoztatókkal és az azonos profilú nemzetközi társaságok / szakosztályok közötti kapcsolatteremtéssel és a már meglévő kapcsolatok erősítésével kívánja segíteni. Az elmúlt években kapcsolatot teremtettünk az International Society for Neurochemistry / ISN/, az European Society for Neurochemistry / ESN / vezetőségével. Ezek a társaságok, valamint az European Neuroscience Association / ENA / valamennyi rendezvényükről értesítést küldtek a szakosztálynak. Ez évben H. Bachelard, az ESN elnöke látogat Magyarországra, hogy megbeszéléseket folytasson az 1984-es Európai Neurokémiai Kongresszus budapesti előkészületeiről. Reméljük, hogy mind az előkészületekben, mind a tényleges szervezésben sikerül majd a szakosztálynak aktívan közreműködni.

Programunk tehát gazdagnak ígérkezik, de ahhoz, hogy terveink maradéktalanul valóraváljanak valamennyi tagtársunk aktivitására szükség van.

HUSZTI Zsuzsa
szakosztálytitkár

A NUKLEINSAV ÉS FEHÉRJEBIOSZINTEZIS SZAKOSZTÁLY MUNKA TERVÉRŐL

Bár szinte minden hazai kutatási centrumban foglalkoznak nukleinsav-kutatással, a témák többségét Szegeden művelik. Ezért szakosztályunk már a Magyar Biokémiai Társaságban sem követte a szakosztályülések hagyományos formáit, hiszen a Szegedre vagy Budapestre való évente többszöri utazgatás nemcsak anyagi, hanem egyéb problémákat is jelentett volna. Ezzel szemben a kétévenként megrendezett országos jellegű szimpozionjaink - Siklós, Keszthely, Csopak - minden tekintetben hasznosaknak bizonyultak. Ezeket a 2-3 napos munkaértekezleteken az összefoglaló helyzetképet nyújtó referátumokon kívül, amelyet felkért előadók tartottak, minden kutatóhely bemutathatta és megvitathatta legújabb kutatási eredményeit, s szép számmal és aktívan vettek részt olyan kollégák is, akik nem voltak tagjai a Társaságnak.

Jövő terveink központjában ezeknek az időszakos és országos hatókörű találkozónak megrendezése áll, figyelembe véve az eddigi jó tapasztalatokat - a hagyományos formában. Egyesületünk elnökségének javaslatára ebben az évben a debreceni Vándorgyűlés / augusztus 25-28 / programjának szerves része lesz soronkövetkező munkaértekezletünk. Tagtársaink a Szervező Bizottság körleveléből már értesülhettek arról, hogy az SI elnevezésű szimpozion a nukleinsav-biokémia aktuális problémáival foglalkozik. Ennek napirendjén felkért előadók adnak áttekintést egy-egy kutatási terület legújabb eredményeiről. E mellett 2 - 3 félnap áll rendelkezésünkre, amely a tulajdonképpeni munkaértekezlet lesz - kiselőadásokkal. Magától értetődően ezt is minden résztvevő látogathatja. Ezuton is kérem a nukleinsavak biokémiája és a fehérjebioszintézis iránt érdeklődő tagtársakat, hogy a Vándorgyűlésre vonatkozó elnökségi határozat figyelembe vételével aktív jelenlétükkel, előadásaikkal járuljanak hozzá a találkozó sikeréhez.

Továbbképzési - képzési feladataink ellátását a jövőben is fontosnak tartjuk. A tavaly nyáron Szegeden megrendezett / Boross László tagtárs szervezésében / továbbképző tanfolyam tapasztalatai alapján 3 -4 évenként fogunk továbbképző előadássorozatot szervezni gyakorlati /módszertani/ bemutatókkal részben kezdő, részben tapasztaltabb kutatók számára.

Neves külföldi szakemberek elég gyakran érkeznek hazánkba. Hasznos volna, ha előadásaikat minél több hazai érdeklődő meghallgathatná. Ennek előfeltétele, hogy tagságunk megfelelő időben értesüljenek az előadás témájáról és időpontjáról. Ezért kérem mindazokat, akik a jövőben külföldi szakembert fogadnak, értesítsenek előadása témájáról és időpontjáról, hogy Egyesületünk útján a meghívókat szétküldhessük.

Nem lenne haszontalan, ha a BIOKÉMIA lapjain a nukleinsav és fehérjebioszintézis kutatással foglalkozó kutatóhelyek időről időre beszámolnának legújabb eredményeikről. Bár az egyetemi és akadémiai kutatóhelyek bemutatkozása néhány évvel ezelőtt a Társaság tagságának éppen ezeken az oldalakon megtörtént, az egyesületté válás nyomán újabb kutatóhelyek kerültek munkatársaik révén kapcsolatba szakosztályunkkal. Ha tehát egyetértenek javaslatommal, kérem küldjék majd beszámolóikat.

A nukleinsavak biokémiája és a fehérjebioszintézis iránt érdeklődő minden tagtársunk javaslatát, észrevételét, kritikáját szakosztályunk életére vonatkozólag örömmel várom.

MOLNÁR János
szakosztálytitkár
SZOTE Biológiai Intézet
6720 Szeged, Somogyi B.u.4

A Patobiokémiai Szakosztály feladata és tervei

A Magyar Biokémiai Egyesület megalakulását követő tájékoztató felmérés alkalmával mintegy 100 - 120 egyesületi tag a patobiokémiát, orvosi biokémiát vagy közelebbről a daganatbiokémiát jelölte meg érdeklődési körének. Egyesületünk elnökségének a Patobiokémiai szakosztály megalakításáról hozott határozatát nemcsak örvendetesnek, hanem szükségesnek is tarthatjuk, mert az orvostudomány különböző területein és pl. a gyógyszerkutatás területén dolgozó biokémikusok sajtóságos és bizonyos tekintetben elszigetelt helyzetben vannak. Ennek jellemzésére itt csak néhány szempontot említek meg azért, hogy a magyar biokémikusok szélesebb rétegei is megismerhessék és méltányolhassák az orvosi kutatásokban dolgozó kollégáik munkáját:

a/ Biokémiai tudásukat az orvostudomány által felvetett kérdések megválaszolására kell felhasználniuk s ez azt jelenti, hogy a kutató munka célja és eszközei nem egy és ugyanazon tudományág területére esnek. b/ Munkájukat nehezíti az, hogy az analitikai és preparatív biokémiai módszereket nem ritkán igen nehezen kezelhető biológiai anyagmintákra kell alkalmazniuk. c/ Minthogy munkahelyükön általában azok vannak többségben, akik más tudományágban szereztek szakképesítést, munkájukat csak végső eredményében, illetve hasznosíthatósága szerint értékelik. d/ Ha alapkutatást nem végeznek, előfordulhat, hogy szakismeretüket sehol nem tartják számon.

Az előbb felsoroltak - úgy vélem - meggyőzően támasztják alá azt : mennyire felelősségteljes feladata a Patobiokémiai szakosztálynak fórum teremtése az orvosi kutatásokban dolgozó biokémikusok számára. A szakosztály kitarja kapuit mindazok számára - függetlenül attól, milyen szakképesítéssel rendelkeznek - , akik az egészséges és kóros emberi és állati szervezet, szervek és egyes sejt-féleségek anyagcseréjét tanulmányozza. Elsősorban azokra a tagtársainkat várjuk és számítunk munkájukra, akik daganatbiokémiával, arterioszklerózissal, a parenchymás szervek kóros állapotaival, a kötőszövet és a vérárvadás biokémiájával foglalkoznak.

Bár szakosztályunk elnevezésére vonatkozólag több javaslat is elhangzott, úgy véljük, hogy a szakosztály tagjainak közös érdeklő-

dési területét legjobban a "patobiokémia" elnevezés fedi. Ez természetesen nem zárja ki a szakosztályból az egészséges szövetek kutatásával foglalkozókat. A patobiokémiával a kutatási terület gyakorlati célkitűzéseit kívánjuk hangsúlyozni, hiszen a kutatók többsége azért foglalkozik valamely patológiai alapjelenség / sejtkárosodás, gyulladás, kóros sejtszaporodás, stb. / molekuláris mechanizmusával, hogy munkájának eredményeivel elősegítse a diagnosztikai vagy a terápiás eljárások fejlődését az orvostudomány területén. Reméljük, hogy a szakosztály elnevezése csak szükségszerű elhatárolódást és semmiképpen sem elzárkózást jelent Egyesületünk többi szakosztályától éppen úgy, mint a MTESZ-be tömörült biológiai érdeklődésű más egyesületektől.

Szakosztályunk alakuló ülését április 16-án, pénteken délután 15 órai kezdettel tartjuk a Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. Kórbonctani és Kísérleti Rákkutató Intézetének tantermében. Ennek tervezett programja a következő :

Muszbek László : Tapasztalatok a patobiokémia oktatásáról.

Szikla Károly és Hullán Lehel : A foszforilált timidin bioszintézisének utjai a daganatos sejtben.

Staub Mária : A DNS polimeráz működése egészséges és daganatos sejtekben.

Fésüs László : A szöveti transzglutamináz patobiokémiai szerepe.

Az ezévi debreceni vándorgyűlés programjában szimpozion szervezésére kapott megbízást Szakosztályunk. Ennek témája : A sejtkárosodás és következményeinek patobiokémiája.

Ezuton is kérjük tagtársainkat, hogy Szakosztályunk programjának megvalósításában minél többen aktívan vegyenek részt.

JENEY András
szakosztálytitkár

Szteroidbiokémiai szakcsoport

A Magyar Biokémiai Egyesület tagnyilvántartó kérdőívein 30 tagtársunk jelölte meg a szteroidbiokémiát érdeklődési körként, holott az elmúlt évek szteroidbiokémiai rendezvényein készült jelenléti ivenk adatai szerint ennél lényegesen többen tevékenykednek ezen a vonalon egyrészt a szteroidok anyagcseréjét vizsgálva, másrészt a szteroidok hatásmódja, illetve a szteroid receptor-kutatás területén.

A szteroidbiokémia hazai kutatóit az Endokrinológiai Társaság, a Magyar Élettani Társaság és a Magyar Biokémiai Egyesület tagjai között találjuk. Kutatómunkájuk a Magyar Kémikusok Egyesületének szteroidkémiával és szteroid-szintézissel foglalkozó tagjainak érdeklődését is felkeltik, de a szteroid kutatás hazai eredményei az MTA Szteroidkémiái Munkabizottság munkáulésein is megvitatásra kerülnek. A szteroidbiokémia területén dolgoznak azok a tagtársaink, akik a Biotechnológiai szakosztályunk tagjaiként a szteroid vegyületek mikrobiológiai átalakításával foglalkoznak. Ezen több vonalon futó tudományos kutató tevékenységben közös a vizsgálandó vegyületek /szteroidok/ kémiai szerkezete, valamint ezen vegyületek szerkezete és a biológiai hatása közötti kapcsolat keresése, az erre vonatkozó ismeretek bővítése.

A szteroidbiokémiai szakosztály megalakulása óta feladatának tekintette ezen több irányú kutató aktivitás összefogását az MBKT adta lehetőségek felhasználásával. Az elmúlt időben társasági, illetve egyesületi tagságtól függetlenül gyűjtötte össze a hasonló terület művelőit egy-egy közérdeklődésre számoltartó téma megvitatására, együttműködve más egyesületek szakosztályaival, vagy az MTA Szteroidkémiái munkabizottságával. Ugyancsak fontos feladatunk volt a szteroidbiokémiai kutató munka területén a külföldi kapcsolatok fejlesztése. Így szervező munkánk eredményeként az elmúlt évben a Szegeden megtartott Multilaterális együttműködési konferencia keretében tartott Szteroidkémiái és biokémiai szimpozionon, valamint a Weimarban szervezett Szteroidbiokémiai szimpozionon is színvonalas előadások képviselték a hazai szteroidbiokémiai kutatást.

Ezt a munkát kívánjuk folytatni az elkövetkező időben is, összegyűjtve a szteroidbiokémia eredményei után érdeklődőket, illetve ezen kutatási terület művelőit. Célunk érdekében irodalmi munkásságuk alapján levélben kívánjuk felkeresni a téma hazai művelőit esetleges csatlakozási szándékuk után érdeklődve. Tagtársainktól pedig elvárjuk, hogy a munkában való részvételre kérjék fel azon kollegákat is akik esetleg adminisztratív okokból ezideig nem kapcsolódtak be közös munkánkba.

Terveink szerint a XXII. Biokémiai Vándorgyűlésen külön szimpozium foglalkozik szteroidbiokémiai kutatási eredményekkel. Ennek keretében - szakosztály ülés szervezését tervezzük, ami a Debrecenben folyó munka részletes megismerésén túl előnyös lehetőséget biztosít a debreceni munkatársak és az ország más területén dolgozó kollegák szakmai kapcsolatának fejlesztésére. A szakmai találkozók és munkaüléseket takarékosági okokból /utazási költség csökkentés/ is, de szakmai szempontból is a megvitatandó témáktól függően és az igényeknek megfelelően, esetleg más rendezvényekhez kapcsolva, például az MTA munkabizottságok terveivel összehangolva kívánjuk megszervezni az elkövetkező időben is.

Ehhez a munkához kérjük segítségüket, és a rendezvényeinket támogató részvételüket.

SZENTIRMAI Attila
szakcsoporttitkár



Az Életfolyamatok Szabályozási Mechanizmusa Országos Kutatási Fő-
irány mellett működő BIOMEMBRÁN PLÉNOM szoros együttműködésben a
Magyar Biokémiai Egyesülettel, a Magyar Biofizikai Társasággal és
Magyar Élettani Társasággal sümegen, május 10 - 14 között tartja

XII. MEMBRÁNTRANSPORT KONFERENCIÁJÁT

A Konferencián összefoglaló előadások hangzanak el felkért előadók-
kal többek között a membrán események és a sejtmozgás kapcsolatáról,
a mesterséges lipid membránok működésének bizonyos vonatkozásairól,
a membrán enzimek és receptorok kölcsönhatásáról, stb.. Kis előadá-
sok tartására ebben az évben sem lesz lehetőség, az eredmények be-
mutatására a poster szekcióban kerül sor.

A Konferencia iránt érdeklődők részletesebb tájékoztatást az
alábbi címen kaphatnak : Dr.SOMOGYI János egyetemi tanár, SOTE I.Ké-
miai-Biokémiai Intézete Budapest, 8., Pf.260 , 1444 .

+
++++
+

A KOLINERG RENDSZER NEUROKÉMIAJA ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREI

tárgyu tanfolyamat szervez Egyesületünk Neurobiokémiai Szakosztálya
Szegeden, július 5-10 között. Részvételi díj 750 Ft. Az előadások
tárgyköre :

- A szinaptikus transzmisszió morfológiája
- Az acetilkolin szintézise és regulációja
- A szinaptikus transzmisszió modulációja
- A preszinaptikus gátlás jelentősége az acetilkolin
release mechanizmusában
- A transzmissziós helyek plaszticitása és a receptorok
lokalizációja
- Az acetilkolin receptorok szintézise és transzportja
- Az acetilkolineszteráz molekuláris formáinak struktu-
rális organizációja.

A gyakorlati foglalkozások tematikája :

- Az acetilkolin gázkromatográfiás meghatározása
- A kolinacetiltranszferáz radiokémiai meghatározása
- Az acetilkolin receptorok kvantitatív meghatározása .
- Az acetilkolineszteráz molekuláris formáinak elkülönítése

Részvételi szándék bejelentése: MBKE Neurobiokémiai Szakosztály, Bp.
Pf.451. 1372 "Neurokémiai tanfolyam".

HAEMATOLÓGIAI VILÁGKONGRESSZUS BUDAPESTEN

A Nemzetközi Haematológiai Társaság /ISH/ és a Nemzetközi Vértanszfúziós Társaság /ISBT/ ez év augusztusában / 1-7 / Budapesten tartja együttes kongresszusát. Augusztus 2-6-ig délelőttönként plenáris előadások, koradélutánonként - párhuzamos szekciókban - szimpozionok lesznek. Kiselőadások helyett a résztvevők postereken mutatják be eredményeiket, a késődélutáni órákban pedig poster-megbeszéléseken vitatják meg ezeket. Julius 31-én és aug.1-én kongresszus előtti értekezletek, laboratoriumi gyakorlatok, "workshop"-ok lesznek és egy intenzív oktatási program / Educational Programme /. Ennek keretében mintegy 40 témában a legkiválóbb szakemberek 90 percben oktatják és demonstrálják szakterületüket. A kongresszust szatellita szimpozionok követik.

A dus program biokémiai vonatkozású témáiról az alábbiakban előzetesen tájékoztatjuk olvasóinkat. Bővebb felvilágosítást a MOTESZ Kongresszusi iroda ad : ISH + ISBT Congress, Budapest, 1361 Pf.32.

P l e n á r i s előadások :

Anstee, D.J./UK/:

Monoclonal antibodies, tools for the characterization of blood group antigen.

Bergelson, L.D./USSR/:

Recent advances in blood cell membrane lipid research.

Beutler, E./USA/:

Advances in enzyme replacement therapy.

Goldstein, J./USA/:

Enzymatic conversion of red cell ABO groups for transfusion.

Kan, Y.W./USA/:

Gene transfer.

Klein, G./Sweden/:

Tumor antigens and neoplastic transformation.

Koscielak, J./Poland/:

Modern concepts of structure and function of blood cell membrane glycolipids.

Lóránd, L./USA/:

Physiological controls in the clotting of fibrinogen. Relevant molecular diseases.

Mitschison, A./UK/:

Membrane receptors and cell cooperation.

Nevanlinna, H.R./Finland/:

Leukocyte interferon production in cell suspensions.

Nienhuis, A.W./USA/:

New perspectives in molecular biology of genes.

Orkin, S.H./USA/:
Molecular genetics of human globin genes.

Rapoport, S./GDR/:
Regulation of red blood cell metabolism.

Vilcek, J./USA/:
Interferon production and actions : an overview. Structure, functions and use of interferons.

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

Biological action and clinical significance of antithrombin III.
Chairman : Abilgaard, U. /Norway/

Transferrin.
Chairman : Aisen, Ph./USA/

The red cell membrane.
Chairman : Bunn, H.F./USA/

Biochemistry, physiology and genetics of Factor VIII.
Chairman : Bloom, A.L./USA/

Platelet activation reactions.
Chairman : Caen, J.P./France/

Pharmacologic modulation of erythropoiesis.
Chairman : Fisher, J.W./USA/

Enzymology of blood coagulation.
Chairman : Hemker, N.C./Holland/

Hereditary disorders of erythrocytes associated with enzyme deficiencies.
Chairman : Jaffé, E.R./USA/

New antisickling agents.
Chairperson : Labie, D./France/

Plasma fibronectin : biological and clinical significance.
Chairman : Lundsgaard-Hansen, P./Switzerland/

Biochemistry of red cell membrane antigens.
Chairman : Salmon, Ch./France/

Activation of coagulation factors on the surface of platelets.
Chairman : Walsh, N.P./USA/.

Szatellita szimpozion : Symposium on platelet contractile proteins.

Az Európai Trombózis Kutató Társaság rendezvénye - Debrecen, 1982 augusztus 9-11. Szervező : Muszbek László, DOTE Központi Klinikai Kémiai Laboratorium, Debrecen 4012 Pf.40.

O k t a t á s i p r o g r a m :

Beutler, E./USA/:
Screening techniques for enzyme deficiencies.

Huehns, E., Jacobs, A./UK/:
Iron metabolism.

Lehmann, H./UK/
Haemoglobinopathies and thalassaemia.

Organized
by the Cercle Français
de Biologie Cellulaire

under the auspices
of the European
Cell Biology Organization

I n f o r m a t i o n :



First European Congress on Cell Biology

Cercle Français de Biologie Cellulaire
67, rue Maurice-Günsbourg
94200 IVRY, France

Paris, July, 19-24, 1982

Tentative List of Symposia

1. Organization and function of genomes

- 1.1. Organization of genomes
- 1.2. Transcription and post-transcription events
- 1.3. Chromatin and non chromatin structures
- 1.4. Introduction of foreign genes
- 1.5. Localization and transcriptional regulation of oncogenes
- 1.6. DNA library of human individual chromosomes
- 1.7. Mammalian cytogenetics

2. Membranes

- 2.1. Energy transduction
- 2.2. Membrane compartmentalization and membrane traffic

3. Lysosomes

- 3.1. Lysosomes and traffic of macromolecules
- 3.2. Biosynthesis of lysosomal enzymes

4. Post-translational events

- 4.1. Covalent events
- 4.2. Non covalent events

5. Nervous cells

- 5.1. Synapse
- 5.2. Mechanisms of intracellular movement

6. Differentiation

- 6.1. Morphogenesis and positional information
- 6.2. Translation of zygote asymmetry in the embryo organization
- 6.3. Cellular aging

7. Hormonal actions

- 7.1. Steroid hormones actions
- 7.2. Hormonal transduction mechanisms through adenylate cyclase dependent systems
- 7.3. Hormonal transduction mechanisms independent of cyclic nucleotides
- 7.4. Vegetal hormones

8. Cytoskeleton

- 8.1. Microtubules
- 8.2. Actine microfilaments
- 8.3. Intermediate filaments

9. Parasitology

10. New technics

- 10.1. Fluorescence
- 10.2. Tridimensional structures
- 10.3. Image analysis

11. Cellular Biology and Environment

12. Nuclear and cytoplasmic genomes in the vegetal production

13. Vegetal genetic engineering

14. Cellular Biology and Space Research

TIBS - Noticeboard

A Calendar of Meetings

★ indicates a new entry.

5-6 April 1982

Atherosclerosis: Mechanisms and Approaches to Therapy, Biological Council's Annual Symposium, London. (The Administrative Secretary, Mrs J. Kruger, c/o Dept of Pharmacology, University College, London WC1E 6BT, U.K.)

16-23 April 1982

66th Annual Meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology, New Orleans, LA, U.S.A. (Office of Scientific Meetings, FASEB, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814, U.S.A.)

18-21 April 1982

73rd Annual Meeting of the American Society of Biological Chemists (in conjunction with the 66th Annual Meeting of FASEB), New Orleans, LA, U.S.A. (Office of Scientific Meetings, FASEB, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814, U.S.A.)

25-29 April 1982

FEBS Meeting on Cell Function and Differentiation, Athens, Greece. (Secretariat, Special FEBS Meeting, Nuclear Research Center Demokritos, Dept of Biology, Aghia Paraskevi, Attikis, Greece.)

3-6 May 1982

★ **30th Colloquium 'Protides of the Biological Fluids'**, Brussels, Belgium. (Secretariate, Institute for Medical Biology, Alsebergsesteenweg 196, Chaussée d'Alseberg, 1180 Brussels, Belgium.)

4-7 May 1982

★ **International Symposium on the Secretory Immune System**, New York, U.S.A. (Conferece Department, The New York Academy of Sciences, 2 East 63rd Street, New York, NY 10021, U.S.A.)

25 May-4 June 1982

Gene expression in normal and transformed cells, NATO and Gulbenkian Foundation International Summer School, Sintra Estoril, Portugal. (Dr J. E. Celis, Biostructural Chemistry, Dept of Chemistry, Aarhus University, DK-8000 Aarhus, C, Denmark.)

4-8 July 1982

★ **3rd International Meeting of the International Society for Developmental Neurosciences**, Patras, Greece. (Prof. E. Kouvelas, Secretary, Local Organizing Committee, Department of Physiology, School of Medicine, University of Patras, Patras, Greece.)

5-24 July 1982

FEBS-ICRO International Course on Biochemistry and Genetics of Yeast, Madrid, Spain. (Dr C. Gancedo, Instituto de Enzimologia, C.S.I.C., Arzobispo Morcillo 4, Madrid-34, Spain.)

13-16 July 1982

Membrane-Located Receptors and Aspects of Membrane Dynamics, 8th International Subcellular Methodology Forum, Guildford, U.K. (Dr E. Reid, Wolfson Bioanalytical Unit, Robens Institute, University of Surrey, Guildford, Surrey GU2 5XH, U.K.)

26-29 July 1982

17th Annual Scientific Meeting of the European Society for Radiation Biology, Bordeaux, France. (Dr J. F. Duplan, Inserm Unité 117, 229, Cours de l'Argonne 33076 Bordeaux, France.)

9-13 August, 1982

International Conference on Manipulation and Expression of Genes in Eukaryotes, Clayton (Melbourne), Australia. (Dr P. Nagley, Department of Biochemistry, Monash University, Clayton, Victoria 3168, Australia.)

11-13 August 1982

Symposium on Biotin-dependent Enzymes, Adelaide, South Australia. (Dr D. B. Keech, Dept of Biochemistry, University of Adelaide, Adelaide, S. Australia 5000.)

12-15 August 1982

Lipids in Cancer, Indian-Pacific Express (Sydney-Perth), Australia. A satellite meeting of the 12th IUB Congress. (Dr J. R. Sabine, Dept of Animal Physiology, Waite Agricultural Institute, Glen Osmond, SA, Australia 5064.)

16-29 August 1982

'New Developments and Methods in Membrane Research and Biological Energy Transduction', Island of Spetsai, Greece. (Prof. Dr K. W. A. Wirtz, State University of Utrecht, Laboratory of Biochemistry, Padualaan 8, P.O. Box 80.054, NL-3508 TB Utrecht, The Netherlands.)

25-27 August 1982

★ **8th Dutch-British Endocrine Meeting**, Noordwijkerhout, The Netherlands. (Dr J. W. F. Elte, Dept of Endocrinology (Bldg 5), University Hospital, 2333 AA Leiden, The Netherlands.)

12-17 September 1982

German Botanical Society, 100th Anniversary Meeting, Freiburg/Breisgau. (Professor Dr G. Harnischfeger, Deutsche Botanische Gesellschaft E.V., Unere Karspüle 2, D-3400 Göttingen, F.R.G.)

22-26 September 1982

★ **24th Symposium of the Gesellschaft für Histochemie**, 'Cell receptors: Visualization, Structure and Function', Gargellen, Austria. (Prof. Ph. U. Heitz, Institut für Pathologie, Schönbeinstr. 40, CH 4056 Basel, Switzerland.)

22-26 September 1982

Biophysical Aspects of Receptor Structure and Function, Portorose, Yugoslavia. (Prof. D. Hadzi, Boris Kidric Institute of Chemistry, P.O. Box 380, 61001 Ljubljana, Yugoslavia.)

October 1984

International Symposium: Calcitonin 1984, Milan, Italy. (Dr Maria Luisa Pecile, Dept of Pharmacology, 3rd Chair, School of Medicine, University of Milan, Milan, Italy.)

TIBS Journal Club

Twenty-two correspondents have agreed to contribute reports to **TIBS Journal Club**. Their names, addresses and fields of interest are listed below. Readers who wish to send reprints and preprints for consideration as topics for Journal Club should contact the appropriate correspondent.

A few additional correspondents will be appointed to cover topics not included on this list.

Bioenergetics (mitochondrial and microbial)

D. B. Kell,

Dept of Botany and Microbiology,
School of Biological Sciences,
University College of Wales,
Aberystwyth SY23 3DA, U.K.

Biophysics and physical biochemistry

H. Westerhoff,

Universiteit van Amsterdam,
Vakgroep Biochemie,
B.C.P. Jansen Instituut,
Plantage Muidergracht 12,
1018 TV Amsterdam-C, The Netherlands.

Biotechnology

K. Soda,

Institute for Chemical Research,
Kyoto University,
Uki, Kyoto-Fu 611, Japan.

Carbohydrates and glycoproteins

F. Wieland,

Institut für Biochemie,
Universität Regensburg,
Universitätsstrasse 31,
8400 Regensburg, F.R.G.

Cell growth and transformation

A. Ziemiecki,

Institut für Virologie,
Frankfurterstr. 107,
6300 Giessen, F.R.G.

Clinical biochemistry

R. J. Thompson,

University of Cambridge,
Dept of Clinical Biochemistry,
Addenbrooke's Hospital,
Hills Road,
Cambridge CB2 2QR, U.K.

Cytoskeleton and structural proteins

B. Geiger,

Dept of Chemical Immunology,
Weizmann Institute of Science,
Rehovot, Israel.

Enzymes and the control of metabolism

R. Gillies,

Dept of Molecular Biophysics and
Biochemistry
Yale University,
Box 6666,
New Haven,
CT 06511, U.S.A.

Gene structure and organization (including RNA processing) - animal viruses

R. Tjian,

Dept of Biochemistry,
University of California,
Berkeley,
CA 94720, U.S.A.

EMBO Courses

Provisional Programme 1982

Subject	Organizer and Address for Further Information and Inquiries	Date Place	Subject	Organizer and Address for Further Information and Inquiries	Date Place
Practical Courses					
Microinjection	<i>Prof. A. Gräßmann</i> Institut für Molekularbiologie und Biochemie (WE 03), Freie Universität FBI, WE3, Arnimallee 22, 1 Berlin 33, F.R.G.	15-19 March Berlin	DNA Nucleotide Sequencing Techniques	<i>Dr F. Galibert</i> Laboratoire d'Hématologie Expérimentale, Centre Hayem - Hôpital Saint-Louis, 2, place du Dr. Fournier, 75475 Paris Cédex 10, France	3-15 May Paris
Gene Cloning, Expression and Mutagenesis	<i>Dr M. Zabeau</i> European Molecular Biology Laboratory, Postfach 1022.09, 69 Heidelberg, F.R.G.	6-17 September Heidelberg	Cloning of Plant Genes	<i>Prof. D. von Wettstein</i> Department of Physiology, Carlsberg Laboratory, Gamle Carlsberg Vej 10, 2500 Copenhagen-Valby, Denmark	4-16 October Copenhagen-Valby
Novel Developments in Rapid DNA Sequencing and Synthesis Techniques	<i>Dr G. Volckaert</i> Rega Institute for Medical Research, University of Leuven, Minderbroedersstraat 10, 3000 Leuven, Belgium	10 days in September Leuven	B Lymphocyte Differentiation	<i>Dr F. Melchers</i> Basel Institut für Immunologie, Grenzacherstrasse 487, 4056 Basel, Switzerland	4-15 October Basel
Chromosome Dissection, DNA Microcloning and Microinjection	<i>Dr J.-E. Edström</i> European Molecular Biology Laboratory, Postfach 1022.09, 69 Heidelberg, F.R.G.	6-17 June Heidelberg	Electron Microscopy of Nucleic Acids	<i>Dr H. Delius</i> European Molecular Biology Laboratory, Postfach 1022.09, 69 Heidelberg, F.R.G.	17-22 May Heidelberg
Molecular and Cellular Biology of Trypanosomes	<i>Dr F. R. Opperdoes</i> Research Unit for Tropical Diseases, ICP, Av. Hippocrate, 74, 1200 Brussels, Belgium	13-25 September Brussels	Culture of Neural Cells	<i>Prof. G. Burnstock</i> Department of Anatomy and Embryology, Centre for Neuroscience, Gower Street, London WC1E 6BT, U.K.	June/July London
Plant Cell Culture Techniques for Molecular Biologists	<i>Dr I. Potrykus</i> Friedrich Miescher Institut, Postfach 273, 4002 Basel, Switzerland	Autumn Basel	The Use of Ti Plasmid as Cloning Vector for Genetic Engineering in Plants	<i>Dr M. van Montagu</i> Laboratorium voor Genetika, Rijksuniversiteit, K.L. Ledeganckstraat 35, 9000 Gent, Belgium	9-27 August Gent
Immunocytochemistry and its Application in Brain Research	<i>Prof. D. F. Swaab</i> Netherlands Institute for Brain Research, Ijdijk 28, 1095 KJ Amsterdam, Netherlands	24-28 May Amsterdam	Lecture courses		
Hybridomas and Monoclonal Antibodies	<i>Dr Z. Eshhar</i> Department of Chemical Immunology, Weizmann Institute of Science, Rehovot 76100, Israel	27 June- 13 July Rehovot	<i>Drosophila</i> Developmental Genetics	<i>Dr G. Morata</i> Centro de Biología Molecular, Facultad de Ciencias, Canto Blanco, Madrid-34, Spain	30 June-7 July Madrid
Chromosomal Localization of Genes	<i>Dr G. Bernardi</i> Laboratoire de Génétique Moléculaire, IRBM, 2, place Jussieu, 75005 Paris, France	10 days in Spring Paris	Regulation of Gene Expression in Prokaryotes and Eukaryotes (co-sponsors NATO and FEBS)	<i>Dr M. Grunberg-Manago</i> Institut de Biologie Physico-Chimique, 13, rue P. et M. Curie, 75005 Paris, France	30 August- 11 September Spetsai
Automated Chemical and Enzymatic Gene Synthesis	<i>Prof. H. G. Gassen</i> Institut für Organische Chemie und Biochemie, Technische Hochschule, Petersenstrasse 22 61 Darmstadt, F.R.G.	21 March- 3 April Darmstadt	Single Channel Recording in Biological Membranes	<i>Prof. F. Conti</i> Laboratorio di Cibernetica and Biofisica, CNR, Camogli, Italy	20-29 May Erice, Trapani
Computer Image Processing of Electron Micrographs	<i>Dr K. R. Leonard</i> European Molecular Biology Laboratory, Postfach 1022.09, 69 Heidelberg, F.R.G.	21-28 April Heidelberg	Intensive Lecture Course: Basic Immunology	<i>Dr A. Siccardi</i> Istituto di Genetica, via S. Epifanio 14, 27100 Pavia, Italy	13-25 September Pavia