BIOKÉMIA

A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET TÁJÉKOZTATÓJA
VI.évf.2.szám 1982 junius

Szerkesztő bizottság : ALKONYI István, BAGDY Dániel, FALUS András, GARZÓ Tamás, GERGELY Pál, SZÁSZ Ilma és SZEBERÉNYI Szabolcs

Felelős szerkesztő : BAGDY Dániel

Technikai szerkesztő : BÖLÖNI Erzsébet és JURÁCSIK János

A tartalomból :

F i a t a l o k f ó r u m a

A szteroid hormon-receptor kölcsönhatás kinetikai vizsgálata

+

Az emberi hemoglobin α-lánc homogenitása

+

Miozin polimorfizmus a harántcsikolt izom rostjaiban

+

Acetilkolineszteráz molekuláris formáinak biokémiai jellemzése és hisztokémiai lokalizálása patkány központi és perifériás idegrendszerében

+

A plazmamembrán foszfolipidek szerepe a limfocita stimuláció szabályozásában

+

A patkány vesicula seminalis citoplazmatikus androgén receptorának jellemzése.

B e s z á m o l ó t u d o m á n y o s t a l á l k o z ó k r ó l

F i g y e l ő

H i r e k és e s e m é n y e k

E szám szerzői :

ARÁNYI Péter SOTE II.Kémiai-Biokémiai Intézet
FÖLDI János Országos Hematológiai és Vértranszfuziós Intézet
PINTÉR Katalin ELTE Biokémiai Intézet
RAKONCZAY Zoltán SZOTE Központi Kutató Laboratorium
SOMOGYI János SOTE I.Kémiai-Biokémiai Intézet
STAUB Mária SOTE I.Kémiai-Biokémiai Intézet
SZAMEL Márta SOTE I.Kémiai-Biokémiai Intézet
SZENTIRMAY Attila Gyógyszerkutató Intézet
ZAKÁR Tamás SOTE I.Kémiai-Biokémiai Intézet

FIATALOK FÓRUMA

EGYESÜLETÜNK haladó hagyományként vette át egyik elődjének, a Magyar Biokémiai Társaságnak alapszabályzatából a SZÖRÉNYI IMRE emlékelőadások megtartását. A két évenként meghirdetett pályázatot olyan fiatal tagtársaink számara irja ki, akik már tul vannak a szakmai inaséveken és önálló tudományos munkára való alkalmasságukat eredményeikkel igazolják.

Az ezévi pályázatra 7 pályamunka érkezett Egyesületünk cimére. Mint eddig, most is semleges birálók döntenek az emlékelőadás megtartásának odaitéléséről. Mint eddig, most is közzétesszük majd az eredményt a Biokémia lapjain. Most azonban először adjuk közre a pályázatok anyagát még a döntés előtt, hogy Egyesületünk minden tagja megismerhesse fiatal tagtársaink munkáját s véleményt formálhasson róluk. A következőkben a szerzői névsor sorrendjében olvashatják ezeket. Egy pályázatot a Vezetőség -formai okokból- nem tartott közölhetőnek./Fel.szo

+

A SZTEROID HORMON-RECEPTOR KÖLCSÖNHATÁS KINETIKAI VIZSGÁLATA

Arányi Péter / SOTE II.Kémiai-Biokémiai Intézet /

A szteroid hormonok molekuláris hatásmechanizmusának vizsgálatában alapvető jelentőségü a hormon analógok és a citoplazmatikus receptor fehérjék kölcsönhatásának analizise : a receptor hormon iránti affinitásának és specificitásának meghatározása. Az elmult tiz-tizenöt évben számos laboratoriumban végzett vizsgálatok gyakorlati fontosságot is nyertek, uj, szteroid alapu gyógyszerek tesztelése, sőt tervezése vált lehetővé a hormon-receptor komplexek stabilitásának mérésével. E célból leggyakrabban az un. telitési analizis és a kompeticiós analizis módszerét használják. Mindkét módszer radioaktivan jelzett hormont igényel. A telitési analizis során ezt különböző koncentrációkban adják in vitro a receptor fehérjét tartalmazó oldatbos és az egyensuly beállta után a fehérjéhez kötött, ill. a szabad hormon mennyiségét mérik. Ebből határozzák meg a komplex disszociációs állandóját. A kompeticiós analizis módszerét jelzetlen analógok és a receptor között kialakuló komplex egyensulyi állandójának meghatározására használják.

Ilyenkor azt mérik, hogy a jelzetlen analóg adott koncentrációkban milyen mértékben csökkenti az ismert disszociációs állandójú és ismert koncentrációban jelenlévő jelzett szteroid kötődését a receptor fehérjéhez.

E két, széles körben alkalmazott módszer nyilvánvalóan csak akkor szolgáltathat pontos eredményeket, ha a kívánt egyensuly valóban beáll a szabad és a fehérjéhez kötött szteroid molekulák között. In vitro azonban meglepően sok esetben nem teljesül ez a feltétel. Ennek oka az, hogy a természetes, és különösen néhány általánosan használt szintétikus szteroid és a receptor között kialakuló komplex féléletideje igen hosszu : sok óra, esetleg néhány nap is lehet 0 C°-on - sejtmentes rendszerekben. A disszociációs egyensulyi állandó meghatározásához szükséges alacsony - általában néhány nM - szteroid koncentrációk mellett pedig az asszociáció sebessége is hasonlóvá válik, bár a telitési szteroid koncentrációk tartományában természetesen sokkal gyorsabb lehet ennél. Mivel pedig az egyensuly megközelitéséhez néhány felezési időnek el kell telnie, a mérések pontos elvégzése esetleg heteket venne igénybe, szemben azzal a kb. 2 - 24 órával, amivel a kutatók általában kénytelen megelégedni, már csak a receptor fehérje labilitása miatt is. Ugyanebből az okból járhatatlan az az ut, hogy a hőmérséklet növelésével röviditjük meg az egyensuly beállásához szükséges időt, mert ekkor a receptor denaturálódásának sebessége is rohamosan nő.

A hormon és a receptor közötti komplex képződésének és bomlásának analizisével /1,2/ kideritettem, hogy telitési analizisben a mért disszociációs állandó a tényleges értéktől néhány szám százalékkal tér el akkor, ha az inkubálási idő a komplex féléletidejével körülbelül megegyezik, és nagyságrendekkel nagyobb lehet a valódi egyensulyi állandónál, ha az inkubálási idő lényegesen rövidebb a komplex féléletidejénél. Kompeticiós analizis végzésekor a receptor molekuláknak egyidejüleg különböző szteroidokkal képzett komplexei alakulnak ki, ami a helyzetet bonyolitja. Ennek következtében azokban a kisérletekben, ahol az inkubálási idő tulságosan rövid ahhoz, hogy az egyensuly beállhasson, a nem jelzett szteroid-receptor komplex mért disszociációs állandója az egyensulyi állan-

dónál jelentősen nagyobbnak vagy jelentosen kisebbnek is adódhat - attól függően, hogy a mérés során egyidejüleg használt jelzett és jelzetlen szteroidok receptor komplexei közül melyiknek hosszabb a felezési ideje.

Arra a következtetésre jutottam, hogy a receptornak a különböző szteroidok iránti affinitása a fenti módszerekkel nem határozható meg pontosan /3/. Ez a gyanu - különböző rendszerekben tapasztalt anomáliak miatt - más kutatók közleményeiben is felmerült Alternativ megoldásként ajánlottam a különböző szteroid-receptor komplexek asszociációs és disszociációs sebességi állandóinak meghatározását. Ehhez azonban ki kellett dolgozni a nem jelzett szteroidok és a receptor fehérje közötti komplex asszociációs és disszociációs sebességi állandoinak meghatározására alkalmas módszereket. Ez ugyancsak a kölcsönhatás kinetikai analizise segitségével sikerült /4/.

Az asszociációs sebességi állandó meghatározása lényegében egy rövid inkubálási idejü kompeticiós teszt. A disszociációs sebességi állandó meghatározásához pedig egy előzetesen kialakitott komplex szteroid komponensének kicserélödési sebességét kell mérnünk. A kinetikai allandók meghatározásanak ujszerü módszerei ezek. Helyességüket glukokortikoid receptorok esetében igazoltuk. Radioaktivan jelzett kortikoszteronnak, dexamethazonnak és triamcinolon acetonidnak a csirke thymus glukokortikoid receptor fehérjéjével képzett komplexeinek sebességi allandóit meghatároztuk hagyományos módszerekkel. Ezek hibahatáron belül egyeztek azokkal az értékekkel, amelyeket a fenti szteroidokra tricialt triamcinolon acetonid felhasználásaval, uj módszereinkkel kaptunk. E módszerek lehetővé tették, hogy egy sor szteroidnak meghatározzuk a glukokortikoid receptor fehérjével való kölcsönhatását jellemző állandókat, és ilymódon világitsunk rá a glukokortikoid receptorhoz való kötődés strukturális feltételeire /5/.

Kiderült, hogy - ellentétben a széles körben elterjedt nézetekkel - a glukokortikoid analógok esetében az egyes szubsztituensek hatására nemcsak a disszociáció, hanem az asszociáció sebességi allandója is jelentosen megváltozhat. Egy adott szubsztituensnek a két sebességi állandó értékére gyakorolt hatása egymástól

többé-kevésbé független.

A kinetikai állandók meghatározását felhasználtuk ujonnan szintetizált szteroidok esetleges glukokortikoid hatásának előtesztelésére. E vizsgálatok során - némileg váratlanul - kiderült, hogy egyes szintétikus szteroidok, amelyek a 3-as oxo-csoport helyett klór-atomot tartalmaznak, erősen kötődnek a glukokortikoid receptorhoz. E vegyületeket tovább vizsgáltuk és kimutattuk, hogy in vivo glukokortikoid hatással rendelkeznek; a májban indukálják a tirozin aminotranszferáz enzimet, a timuszban pedig csökkentik a timidin kináz enzim aktivitását. Ezt a vegyületcsaládot szabadalmilag védtük /6/ - abban a reményben, hogy uj, hatékony gyógyszerek alapanyagai lehetnek.

A terápiában széles körben használnak szteroidokat és továbbra is nagy az igény uj, hatékony szteroid analógok - nemcsak glukokortikoidok - előállitására. A szteroid szerkezet és receptor kötés közötti összefüggés meghatározásának módszerei a többi hormonosztályok esetében is elsősorban a telitési és a kompeticiós analizis./ A témakör irodalmának magyar nyelvü összefoglalása a /7/-ben található. / Ezért az általam kifejlesztett kinetikai vizsgálatok kiterjesztése a többi szteroid receptor kötési specificitásának megbizható meghatározására fontos feladat. Jelenlegi kisérleteink erre irányulnak.

A pályázattal kapcsolatos közlemények

1./ Arányi, P.: Kinetics of the glucocorticoid hormone-receptor interaction. False association constants determined in slowly equilibrating systems.
Biochim. Biophys. Acta 584 529-537 /1979/

2./ Arányi, P.: Kinetics of the hormone-receptor interaction. Competition experiments with slowly equilibrating ligands.
Biochim. Biophys. Acta 628 226-227 /1980/

3./ Arányi, P.: Theoretical considerations in assessing steroid hormone-receptor interactions. How do slow kinetics influence the results of equilibrium mearmements?
In Hormones and Cancer /Eds. S., Jacobelli, R.J.B. King, H.R. Lindner, M.E. Lippman /Raven Press, New York, 198o pp 217-226.

4./ Arányi, P., Quiroga, V.: Determine rate constants of interaction of steroid receptors with non-labelled ligands.
J. Steroid Biochem. 13 1167-1172 /198o/

5./ Arányi, P.: Dependence of rate constants of the glucocortieoid hormone-receptor interaction on steroid structure.
J. Steroid Biochem. in the press.

6./ Tóth, J., Hajós, Gy., Fekete, Gy., Horváth, I., Sporny, L., Boór L., Arányi, P., Náray, A., Görög, S., Holly, S.:
Eljárás új 3-Cl-pregnán származékok előállítására. Szabadalom. Bejelentés 1981.X.15. szám 2976/81.

7./ Arányi, P.: A sztereoid hormonok hatásainak szerkezeti alapjai. Biológia, sajtó alatt.

AZ EMBERI HEMOGLOBIN α- LÁNC HOMOGENITÁSA

Földi János Országos Haematológiai és Vértranszfuziós Intézet, 1502 Budapest Pf. 44.

Az emberi hemoglobin α láncát egy duplikálódott gén kódolja, vagyis a haploid genomban két funkcionális α locus található. A számában megkettőződött gén kópiáinak független fejlődése módot ad arra, hogy a génkópiák divergáljanak egymástól, és ezáltal funkciójukban azonos, de szerkezetükben kisebb-nagyobb mértékben eltérő fehérjét kódoljanak. Ennek következtében termékeik keveréke heterogén lehet.

Ilyen heterogenitást találtak az állatok hemoglobinjának α lánca, a szintén duplikálódott gén által kódolt emberi γ lánc esetében és ilyennek tekinthető az emberi β és δ láncok kettőse is.

Az emberi hemoglobin α lánc heterogenitásáról nem volt meggyőző adatunk. Az eredeti szerkezetvizsgálat az α láncot homogénnek irta le /Hill és Konigsberg 1962/, de az akkor használt módszerek nem célozták a heterogenitás kimutatását. Ugyanakkor immunológiai vizsgálatokkal, a kvantitativ komplement fixálás módszerével nyert adataink az α lánc heterogenitására utaltak /Hollán és mt. 1977/.

Minthogy az α lánc homogenitására vonatkozó adatok ellentmondóak voltak, munkámat két fő kérdés megválaszolására öszpontositottam:

- Aminosavszekvencia alapján homogén, vagy heterogén-e az emberi hemoglobin α lánc?
- Ha homogén, van-e olyan posztszintetikus módosulás, amely indokolná az immunológiai eljárásokkal jelzett heterogenitást?

A vizsgálatokat egy olyan beteg α láncain végeztem, akinek négy α génje a normális lánc mellett két abnormális láncot is kódólt, a beteg α lánc abnormalitásra ket-

tős heterozigóta volt. A három lánc egymástól független szekvencia analizise alkalmas arra, hogy az emberi hemoglobin α lánc heterogenitásával kapcsolatos kérdésekre segitségével választ kaphassunk. A láncok mennyiségi aránya alapján megállapitható volt, hogy a két abnormális lánc egy-egy gén terméke, igy biztosan homogén, a harmadik, a normális lánc két gén termékének keveréke, igy heterogén is lehet. /Hollán és mt. 1972/ Ezáltal a heterogenitás vizsgálata két gén termékének keverékére egyszerüsödik, ami lényegesen megkönnyiti a téves adatok kizárását, és lecsökkenti fontos információk elvesztésének veszélyét.

A láncok teljes szekvenciájának meghatározásához uj, a klasszikustól eltérő stratégiát dolgoztunk ki. Ennek lényege az volt, hogy a szerkezetet lehetőleg nagy méretü, molekulasuly alapján tisztitott fragmentumokból határoztuk meg. Ez azt célozta, hogy a tisztitási eljárás során egy, az esetleges heterogenitást hordozó peptid ne kallódjon el. A stratégia végrehajtását egy Beckman 890 tipusu automatikus folyadékfázisu szekvenátor alkalmazása tette lehetővé. Egy ilyen készüléken a szekvencia megbizhatóan meghatározható 33 lebontási lépésig, ami ebben a kisérletsorozatban vizsgált leghosszabb szekvenciaszakasz. /Blouquit és mt. 1980/.

A stratégia egy pontján azonban nem lehetett elkerülni egy kisméretü peptid /12 tagu/ analizisét. Ilyen peptid folyadékfázisu automatikus szekvenálására az irodalomban nem volt eljárás. Azért, hogy a teljes szekvencia analizist egységes metodikával végezhessük el, uj módszert dolgoztunk ki a kisméretü peptidek analizisére. Braunitzer reagens és hordozóanyag együttes használatával a folyadékfázisu automatikus szekvenátort alkalmassá tettük kis méretü peptidek vizsgálatára is. /Földi és mt. 1980 a/

A heterogenitás vizsgálata keverék láncok analizise esetén szükségessé tette, hogy valamennyi Edman lebontási lépés végtermékét, a lebontás sebességével lépést tartva azonnal mennyiségileg meghatározzuk. Ehhez az aminosav feniltiohidantoinok nagynyomásu folyadékkromatográfiás

elválasztásának uj módszerét dolgoztuk ki, amely nemlineáris grádiens elució alkalmazása révén lehetővé tette, hogy egy analizis mindössze 20 percet vegyen igénybe. /Földi és mt. 1980 b/

A módositott és az uj technikák segitségével sikerült az α láncok teljes aminosav sorrendjét hat átfedő szekvenciaszakaszból meghatározni. A kettős heterozigóta három α láncának független vizsgálatával megállapitottuk, hogy a diploid genomban lévő négy emberi α globin gén azonos szerkezetü fehérjét kódol, igy a humán hemoglobin α lánc más duplikálódott globin gének termékével ellentétben homogén termék. /Földi és mt. 1980 a/

Keresve az immunológiai módszerrel jelzett heterogenitás okát, vizsgáltuk az α láncok posztszintetikus, nem enzimatikus glikozilálódását. Mértük a /^{14}C/-glukóz beépülését az α láncokba intakt vörösvérsejtek in vitro inkubációja során. A glikozilált láncok fingerprintjét és azok autoradiogramját felhasználva, korábbi munkánk /Spivak és mt. 1981/ alapján azonositottuk az α láncok in vitro glikozilálódó peptidjeit.

A láncok által kötött glukóz mennyiségének és molekulán belüli eloszlásának meghatározásával kimutatható volt, hogy különböző személyek vörösvérsejtjeiben a hemoglobin α láncok azonos eloszlás mellett különböző mértékben kötnek cukrot. A cukor kötődése megváltoztatja a fehérje antigénsajátosságait, egy NH_2 csoport helyett egy C=O csoport jelenik meg a molekula felszinén. Ezt a változást fel lehet használni a glikozilált molekula mennyiségi meghatározására. /Javid és mt. 1978/

A fentiek alapján egy, a fehérjék glikozilálódásában tapasztalt individuális eltérés indokolja, hogy az immunológiai módszerek miért jelezték az aminosav szekvencia szampontjából homogén α lánc heterogenitását. /Földi és mt. 1982/

Az α lánc elsődleges szerkezetének homogenitása az α gén evoluciójáról alkotott képünk ujraértékelését, számos ezzel kapcsolatos kérdés megválaszolását igényli.

Ez azonban csak nagyszámu, elsősorban DNS vizsgálat eredményei alapján lehetséges. Az α gén evoluciójának további megismerését segitheti elő hemoglobinopathiások hemoglobinjának és a hemoglobin génjeik párhuzamos vizsgálata, amelybe a felhalmozott klinikai tapasztalat segitségével magyar kutatók is bekapcsolódhatnak.

Felhasznált irodalom

Hill,R.J.,Konigsberg,W./1962/ The structure of human hemoglobin. J.Biol.Chem. 237 3151-3156

Hollán,S.R.,Szelényi,J.G.,Brimhall,B.,Duerst,M.,Jones,R.T., Koler,R.D.,Stocklen,Z. /1972/ Multiple alpha chain loci for human haemoglobins, Hb J Buda and Hb G Pest. Nature 235 47-50

Javid,J.,Pettis,P.K.,Koenig,R.J.,Cerami,A. /1978/ Immunologic characterization and quantification of haemoglobin A_{1c}. Brit.J.Haemat. 38 329-337

A pályázat anyagával kapcsolatos saját közlemények

Blouquit,Y.,Braconnier,F.,Cohen-Solal,M.,Földi,J.,Arous,N., Ankri,A.,Binet,J.L.,Rosa,J. /1980/ Hemoglobin Pitie-Salpetriere β 34 /B16/ Val→Phe. A new high oxygen affinity variant associated with familial erythrocytosis. Biochem.Biophys.Acta 624 473-478

Földi,J.,Cohen-Solal,M.,Valentin,C.,Blouquit,Y., Hollán,S.R.,Rosa,J. /1980 a/ The human alpha-globin gene. The protein products of the duplicated genes are identical. Eur.J.Biochem. 109 463-470

Földi,J.,Valentin,C.,Cohen-Solal,M. /1980 b/ A rapid method for the identification of amino acid phenylthiohydantoins by high performance liquid chromatography. J.HRC and CC 3 479-480

Földi,J.,Szelényi,J.G.,Hollán,S.R. /1982/ The nonenzymatic glycosylation of abnormal hemoglobin α chain. Biochimie /megjelenés alatt/

Hollán,S.R.,Dang Huu Lanh,Földi,J.,Horányi,M., Szelényi,J.G. /1977/Duplication of the haemoglobin α-gene. in: Medical Genetics 771-781 Eds: Szabó,G., Papp,Z. Excerpta Medica-Akadémiai Kiadó Amsterdam-Budapest

Spivak,V.,Molcanova,T.P.,Ermakov,M.,Tokarev,Y.N., Martinez,G.,Szelényi,J.G.,Horányi,M.,Földi,J., Hollán,S.R.,Kazieva,H. /1981/ A new hemoglobin variant: Hb Dagestan, alpha 60 Lys→Glu. Hemoglobin 5 133-138

MIOZIN POLIMORFIZMUS A HARÁNTOSIKOLT IZOM ROSTJAIBAN

Pintér Katalin, ELTE, Biokémiai tanszék, Budapest, Puskin u. 3.; K.Mabuchi, F.Sreter és J.Gergely, Boston Biomedical Research Institute, Boston, USA

A harántcsikolt izom nagymértékben heterogén felépitésü és erősen változékony szövet mind a struktura, mind a funkció tekintetében. Az izmokat felépitő rostokat hisztokémiailag, valamint fiziológiai és metabolikus sajátságaik alapján négy csoportba osztjuk: lassu rostok (jelölésük 1), kétféle gyors rost (2A és 2B) és átmeneti vagy 2C rostok. Néhány izom homogén - minden rostja azonos tipusu (pl. a nyul soleus izma csak lassu rostokat tartalmaz, vagy az adductor magnus izom csak 2B rostokból épül fel). Az izmok többsége viszont mozaik mintázatot mutat, azaz a négy különböző rosttipus mindegyike előfordul bennük.

Jól ismert az izmok nagyfoku alkalmazkodóképessége, változékonysága. A plasztikusság megnyilvánul egyrészt az egyedfejlődés, a differenciálódás során, de a már felnőtt izom is készséggel alkalmazkodik a változó külső és belső körülményekhez. A beidegzés tipusa, a változó igénybevétel, különféle betegségek, valamint hormonok befolyásolják az izmok rostkompozicióját, kontraktilis és metabolikus sajátságait. A rostok kontrakciós sajátságát megszabó faktorok közül egyik legfontosabb a rostban lévő miozin természete, ami az eltérő hisztokémiai festődés (miofibrilláris ATP-áz reakció) alapjául is szolgál.

Homogén rostösszetételü izmokból kivont miozin analizise

alapján ismeretes, hogy a lassu és gyors miozin - jóllehet mindkettő hexamer, két nehéz láncból (HC) és négy könnyü láncból (LC) épül fel -, különbözik egymástól mind a nehéz, mind a könnyü láncok tekintetében. Nativ miozin elektroforézisével Na-pirofoszfát gélben (PP_i gél) kimutatható, hogy a gyors miozin három izoenzim keveréke, melyek alegységszerkezete a PP_i gélben mutatott növekvő mobilitásuk szerint: $(HC)_2(LC_2)_2(LC_1)_2$, $(HC)_2(LC_2)_2(LC_1)(LC_3)$ és $(HC)_2(LC_2)_2(LC_3)_2$. A továbbiakban a rövidség kedvéért LC_1 homodimerről, heterodimerről és LC_3 homodimerről fogok beszélni.

Mivel az izmok többsége rostösszetételében kevert, igy ha meg akarjuk ismerni heterogenitásuk, illetve dinamikus sajátságaik molekuláris alapjait, az egész izom helyett az azt felépitő különböző rostok egész sorát kell egyenként analizálni. Ezért elsődleges célunk az volt, hogy egy egyszerü, de érzékeny módszert dolgozzunk ki, melynek segitségével egyetlen izomrostból többféle biokémiai vizsgálatot is el tudunk végezni. Sikerült alkalmaznunk a miozin izoenzimek kimutatására általánosan használt gélelektroforéziseket egyedi rostokra. A rostokat mikroszkóp alatt izoláltuk, és az adott rostot két vagy három részre osztottuk. Az egyik részből kivont fehérjét SDS gélben futtattuk, hogy meghatározhassuk a rostban lévő miozin alegységeit (a könnyü láncok tipusát, egymáshoz viszonyitott arányukat). A másik részből kivont fehérjét nativ körülmények között elektroforetizáltuk, hogy kimutassuk a miozin izoenzimjeit. A harmadik részt arra használtuk, hogy egyidejüleg információt kapjunk az adott rost oxidativ saját-

ságáról is (diaforáz festés). A lassu és 2A gyors rostok oxidativ aktivitása magasabb a 2B rostokénál.

Módszerünk nagy előnye, hogy nem kell speciális mikrogéleket vagy nagyon érzékeny festést használni - az elterjedten használatos gélrendszerek alkalmasak a rostok vizsgálatára is -, ami annak köszönhető, hogy a miozint szinte teljes egészében ki tudjuk nyerni az adott rostból. Ez ad lehetőséget arra is, hogy egyidejüleg három különböző vizsgálatot is elvégezhessünk egyetlen rostból. A módszer egyszerüsége pedig lehetőséget nyujt nagyszámu rost gyors analizisére. Megemliteném még, hogy ez a módszer alkalmas a miozinon kivül a többi kontraktilis fehérje (aktin, tropomiozin, troponin) vizsgálatára is, valamint a biokémiai analiziseket egybe lehet kapcsolni fiziológiai mérésekkel - pl. mérni az adott rost maximális rövidülési sebességét az analizisek előtt -, és igy közelebb juthatunk az izmok komplexitásának megértéséhez.

Az egyedi rostokra kidolgozott módszer alkalmazásával két kérdésre kivántunk választ kapni. 1) A 2A és 2B gyors rostokból izolált miozin mutat-e strukturális különbséget? 2) Milyen módon és mértékben hat a beidegzés tipusa, illetve az igénybevétel erőssége a rostokban megjelenő miozin fenotipusára?

Számos irodalmi adat szerint a napi 8 órában alkalmazott 10 Hz-es stimulálás, valamint az izom tartós erős igénybevétele nem változtatja meg a rostokban lévő miozin tipusát (gyors marad), viszont nő a rostok oxidativ kapacitása, és növekszik a 2A rostok aránya. Kisérleteinkben a fentiekhez

hasonló módon (10 Hz, napi 8 óra, 7 hét) ingereltük a nyul tibialis anterior izmát. A stimulálás hatására az eredetileg a gyors rostok kb. 60 %-át kitevő 2B rostok teljesen átalakultak 2A tipusuvá. A lassu és gyors rostok aránya változatlan maradt. SDS gélben kimutattuk, hogy megnőtt az LC_1/LC_3 arány a stimulálás hatására, s ez az izoenzimek megoszlásában is tükröződik: az LC_1 homodimer relativ intenzitása a legmagasabb. Ezzel szemben a stimulálatlan izom 2B rostjaiból kivont miozinban az LC_1/LC_3 arány sokkal kisebb, s ennek megfelelően a heterodimer csik a legerősebb PP_i gélben. Továbbá a 2A miozin mindegyik izoenzime valamivel lassabban mozog nativ gélben, mint a nekik megfelelő 2B tipusuak. Sokkal szembetünőbb a mobilitásbeli differencia, ha egy csak 2B rostokat tartalmazó izomból (adductor mag.) kivont miozint futtatunk együtt PP_i gélben a stimulált izom rostjaiból kivont miozinnal. Ekkor négy, jól elváló csikot kapunk. A 2A heterodimer együtt fut a 2B LC_1 homodimerrel és a 2A LC_3 homodimer a 2B heterodimerrel. Ezek az adatok arra utalnak, hogy különbség van a 2A, a kevert izom 2B és az adductor mag. 2B rostjaiból kivont miozinok nehéz láncában. Hasonló eredményre jutottunk emberi gyors izmok vizsgálata során is. Megfigyelhető az eltolódás az LC_1 homodimer felé a 2A rostokban, és mobilitásbeli differencia mutatkozik a 2A és 2B miozin megfelelő izoenzimjei között.

Az emberi rostok nagyon gyakran kevertek: lassu és gyors könnyű láncokat is tartalmaznak, s ezeknek a rostoknak a miozinja PP_i gélben nemcsak a jól ismert lassu és gyors izoen-

zimeknek megfelelő csikokat adja, hanem megjelennek ujabb csikok is. Ezek valószinüleg hibrid miozinok (pl. gyors nehéz lánc lassu könnyü láncokkal vagy forditva).

Hibrideket mutattunk ki a nyul tibialis anterior izmának egyes rostjaiban is azt követően, hogy az izmot fázikus elektromos stimulálásnak (60 Hz, 2.5 s 10 perces időközönként, 5 hét) tettük ki, hogy a gyors rostokat lassuvá alakitsuk át. A stimulálás hatására jelentősen megnőtt a lassu rostok száma, gyakoribbá vált a 2C rostok előfordulása. Ezekből a rostokból mutattuk ki a hibrideket. A két különböző stimulálási kisérletünk azt mutatja, hogy tartós, de megszakitott igénybevétel hatására a 2B rostok 2A tipusuvá alakulnak, viszont, ha a stimulálás folyamatos megindul a gyors rostok lassuvá alakulása is.

A nyul masseter izmában a hisztokémiailag 2B tipusu rostok izoenzim képe különbözik az eddig ismertetett tipusoktól. Ebben az esetben a két homodimer csik közel azonos intenzitással jelentkezik PP_i gélben, s a legalacsonyabb a heterodimer csik intenzitása, ami arra utal, hogy valami módon gátolt ennek a formának a kialakulása. Nem találtunk a tipikus lassu (soleus, semitendinosus tipus) miozinnak megfelelő csikot sem, holott a rostok 10-20 %-a hisztokémiailag lassu, és SDS gél alapján ezek a rostok csak lassu könnyü láncokat tartalmaznak. Sok rostban a gyors és lassu könnyü láncok együtt fordulnak elő.

Végezetül egyedi rostok analizisével kimutattuk, hogy a lassu miozin is háromféle izoenzimnek a keveréke, jóllehet az egyes izoenzimek relativ mobilitásában a különbség igen kicsi.

Az egyes izoenzimek a gyors izoenzimekhez hasonlóan a könnyü lánc alegységekben mutatnak különbséget.

Publikációs jegyzék :

1. K.Pintér,K.Mabuchi and F.A.Sréter /1981/
Isoenzymes of rabbit slow myosin.
FEBS Lett.,128, 336-338.

2. K.Mabuchi,K.Pintér,P.Allen,J.Gergely and F.A.Sreter /1981/
Characterization of human and rabbit single fibers.
28th Int.Congr.Physiol.Sci.,Budapest,1980. in Mechanism of Muscle Adaptation to Functional Requierements. eds.F.Guba, G.Maréchal and Ö.Takács. Adv.Physiol.Sci. Vol.24,pp. 69-78. Pergamon Press,Akadémiai Kiadó,1981.

3. F.Jólesz,F.A.Sreter, K.Mabuchi, K.Pintér and J.Gergely /1980/.
Effect of various forms of hypo- and inactivity on slow muscle.
28th International Congr.of Physiol.Sci.Budapest,1980. in Mechanism of Muscle Adaptation to Functional Requirements. eds.F.Guba, G.Maréchal and Ö.Takács. Adv.Physiol.Sci.Vol.24 pp.57-67. Pergamon Press, Akadémiai Kiadó 1981.

4. F.A.Sreter,K.Pintér, F.Jólesz and K.Mabuchi /1982/
Fast to Slow Transformation of Fast Muscles in Response to Long-Term Phasic Stimulation.
Experimental Neurology 75, 95-102.

5. K.Mabuchi, D.Szvetko,K.Pintér and F.A.Sreter
Type 2B to 2A fiber transformation in intermittently stimulated rabbit muscles.
Amer.J.of Physiol. megjelenés alatt.

ACETILKOLINÉSZTERÁZ MOLEKULÁRIS FORMÁINAK BIOKÉMIAI KARAKTERIZÁLÁSA ÉS HISZTOKÉMIAI LOKALIZÁLÁSA PATKÁNY KÖZPONTI ÉS PERIFÉRIÁS IDEGRENDSZERÉBEN

Rakonczay,Z., SZOTE Központi Kutató Laboratórium, Szeged,

Az acetilkolinészteráz (AChE, EC 3.1.1.7) jelentős szerepet tölt be a kolinerg neuronális transzmisszióban. Megtalálható a legtöbb szövetben, de legnagyobb mennyiségben a központi és a perifériás idegrendszerben fordul elő, ahol hisztokémiai módszerekkel a kolinerg és a kolinoceptiv neuronok perikaryonjában és dendritjeiben, mig intra és extraaxonálisan főleg a kolinerg idegsejtekben demonstrálható.

Az 1970-es évek kezdetétől egyre több kisérleti adat bizonyitja, hogy az AChE különböző formában van jelen a szervezetben. Az egyes formák biokémiai karakterizálását csak kevéssé, azok szöveten belüli lokalizációját pedig egyáltalán nem ismerjük, azért célul tüztük ki: 1./ a szolubilis (detergens nélkül szolubilizálható) és membrán-kötött (csak detergenssel szolubilizálható) AChE tisztitását patkány agyból, 2./ a központi és a perifériás idegrendszerből tisztitott különböző enzim formák molekuláris paramétereinek meghatározását, 3./ az AChE molekuláris formák transzformációját az ontogenetikus fejlődés folyamán, 4./ az AChE molekuláris formáinak transzportját, hisztokémiai lokalizációját a perifériás idegrendszerben, 5./ a membrán kötött AChE immunhisztokémiai lokalizációját a központi idegrendszerben és végül, 6./ megkiséreltük ezen alapkutatá-

si eredményünk gyakorlatban való felhasználását az experimentálisan előidézett neuritis (EAN), (amely a human Guillain-Barré betegség modellje) kutatásában.

Eredményeinket a következőkben foglalhatjuk össze:

ad 1./ A szolubilis és a membrán-kötött AChE tisztitásakor affinitás kromatográfiás módszert alkalmaztunk (Rakonczay és mtársa, 1979, 1980, 1981a). A tisztitás foka a kiindulási anyaghoz képest a membrán-kötött enzimnél 17550 x-es, spec. akt.: 3068 µmol ACh hidrolizis/perc/mg fehérje; kinyerés: 51%. Ugyanez a szolubilis enzimnél 15650 x-es, spec. akt.: 3255 µmol hidrolizis/perc/mg fehérje; kinyerés: 33%.

SDS-PAGE-vel merkaptoetanol jelenlétében a membrán-kötött AChE monomerjének molekulasúlya 74500±3000, a szolubilis enzimre 70000±4000 Dalton adódott. A preparátumok tisztasági foka az SDS-PAGE kép alapján nagyobb volt, mint 95% (Rakonczay és mtársai, 1981a, 1981c).

ad 2./ Mig a szolubilis AChE heterogénnek bizonyult (szolubilis A,B,C) gélfiltrálással vagy szacharóz grádiensen analizálva, addig a membrán-kötött AChE ugyanezen körülmények között homogénnek bizonyult, I. Táblázat (Rakonczay és mtársai, 1981b; Vincendon és mtársai, 1980).

I. Táblázat: Szolubilis és membrán-kötött AChE molekuláris paraméterei Triton X-100 jelenlétében

Enzim	Stokes radius (nm)	$s_{20,W}$ (S)	Számitott molekulasúly
Membrán-kötött	8.0±0.2 (15)	9.7±0.2 (4)	328000
Szolubilis A	10.9±0.5 (8)	16 ±2 (2)	680000
Szolubilis B	6.8±0.3 (17)	10.7±0.4 (6)	304000
Szolubilis C	5.4±0.4 (8)	4.4±0.1 (6)	106000

A perifériás idegrendszerben a spinalis ganglionban két AChE forma (4, 10S) a n. ischiadicusban 4 forma (4, 6, 10, 16S) fordul elő (Kása és Rakonczay, 1982).

ad 3./ A posztnatalis fejlődés folyamán a kisagy AChE aktivitása 400%-al nő, mig a 4S molekuláris forma %-os aránya 45%-ról 20%-ra csökken, ugyanezen idő alatt a magasabb molekulasúlyú 10S forma arányosan nő (Rakonczay és Kása, 1981). Eredményeink alapján valószinüsiteni lehet, hogy a 4S forma szintetizálódik először és mintegy prekurzora a 10S-es molekuláris formának.

ad 4./ Hisztokémiai eredményeink szerint a ganglion spinaleban az AChE a durva felszinü endoplazmás retikulum ciszternáiban demonstrálható, biokémiai adataink szerint a ganglionban a 4S forma dominál (összaktivitás 80%-a). Az axonális transzport folyamán a 4S forma feltehetőleg transzformálódik 6, 10 B, 10 B', 16S molekuláris formává, mialatt a 4S forma mennyisége erőteljesen csökken (összaktivitás 7%-a). Az axonon belül a 6 és a 10 B' forma a tubulusokban és a vezikulákban, mig a 10 B forma az axolemma külső felületén helyezkedik el. A 16S forma az intraaxonális organellumokban lokalizálható a transzport folyamán (Kása és Rakonczay, 1982).

ad 5./ A membrán-kötött AChE ellen nyúlban termeltetett antiszérum (Zanetta és mtársai, 1981) segitségével immunhisztokémiai technikával megállapitottuk, hogy patkány kisagyban a Purkinje sejtek és a molekuláris réteg erősen, mig a granuláris réteg festődése jóval kisebb volt összehasonlitva más strukturákkal (Zanetta és mtársai, 1980).

ad 6./ Megállapitottuk, hogy a EAN-ben a vizsgált régiók (gerincvelő mellső és hátsó gyök, ganglion spinale, n. ischia-

dicus) közül a gerincvelő mellső szarvában kiinduló motoros axonokban a 10S AChE szignifikánsan csökken ($p < 0.05$), míg a szolubilis 4S forma mennyisége jelentősen emelkedik. Más régiókban (pl. ggl. spinale) az enzim aktivitás csökkenése az AChE minden formájára (4, 10, 16S) közel azonos módon érvényes. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy az EAN-ben a demielinizáció során a proteolitikus enzimek először az axon felszinén lokalizálható, 10S AChE-re fejtik ki hatásukat (Rakonczay és mtársai, 1982).

A munkával kapcsolatos közlemények jegyzéke

Kása,P. and Rakonczay,Z. (1982) Histochemical and biochemical demonstration of the molecular forms of acetylcholinesterase in peripheral nerve of rat.
Acta histochem. 70, 244-257

Rakonczay,Z. és Kása,P. (1981) Acetilkolinészteráz molekuláris formáinak változása az ontogenetikus fejlődés folyamán patkány kisagyban.
MÉT XLVI. Vándorgyülés, Abstr. 259, p.429

Rakonczay,Z., Mallol,J., Schenk,H., Vincendon,G. and Zanetta,J.-P. (1979) Purification of the membrane-bound acetylcholinesterase from adult rat brain by affinity chromatography.
In: Affinity Chromatography and Molecular Interactions Vol. 86, (Ed.: EGLY,J-M.) INSERM, p. 497

Rakonczay,Z., Mallol,J., Schenk,H., Vincendon,G. and Zanetta,J.-P. (1980) Purification and properties of the membrane-bound acetylcholinesterase from adult rat brain.
In: Synaptic Constituents in Health and Disease (Eds.: M.Brzin, D.Sket and H.Bachelard) Pergamon Press, Oxford, p. 576

Rakonczay,Z., Mallol,J., Schenk,H., Vincendon,G. and Zanetta,J.-P. (1981a) Purification and properties of the membrane-bound acetylcholinesterase from adult rat brain.
Biochimica et Biophysica Acta 657, 243-256

Rakonczay,Z., Molnár,G.K., Kása,P. (1982) Acetilkolinészteráz molekuláris formáinak változása experimentálisan előidézett allergiás neuritisben.
XXII. Biokémiai Vándorgyülés, Debrecen

Rakonczay,Z., Vincendon,G. and Zanetta,J.-P. (1981b) Heterogeneity of rat brain acetylcholinesterase: A study by gel filtration and gradient centrifugation.
J. Neurochem. 37. 662-669

Rakonczay,Z., Zanetta,J-P., Vincendon,G. and Kása,P. (1981c) Purification and characterization of soluble acetylcholinesterase from rat brain.
Neurosci. Lett., Suppl. 7, S429

Vincendon,G., Zanetta,J-P. and Rakonczay,Z. (1980) Heterogeneity of adult rat brain acetylcholinesterase.
In: Synaptic Constituents in Health and Disease (Eds.: M.Brzin, D.Sket and H.Bachelard) Pergamon Press, Oxford, p. 579

Zanetta,J-P., Rakonczay,Z., Reeber,A., Kása,P. and Vincendon,G. (1981) Antibodies against the membrane-bound acetylcholinesterase from adult rat brain.
FEBS Letters 129, 293-296

Zanetta,J-P., Rakonczay,Z. and Vincendon,G. (1980) Comments on the histochemistry of acetylcholinesterase in the rat cerebellum.
In: Synaptic Constituents in Health and Disease (Eds.: M.Brzin, D.Sket and H.Bachelard) Pergamon Press, Oxford, p. 591

A plazmamembrán foszfolipidek szerepe a limfocita stimuláció szabályozásában

A lizolecitin aciltranszferáz és a /Na^++K^+/ATPáz funkcionális kölcsönhatása

Szamel Márta, Somogyi János és Klaus Resch, Semmelweis Orvostudományi Egyetem I.sz. Kémiai-Biokémiai Intézete, 1088 Budapest, Puskin u. 9 és Hannoveri Egyetem Molekuláris Farmakológiai Intézete, Hannover

Egyre több adat utal arra, hogy a sejtek differenciálódásának, növekedésének, osztódásának szabályozásában a plazmamembrán elsődleges szerepet játszik. A sejtaktiválódás molekuláris szintü mechanizmusainak vizsgálatában központi kérdés, hogyan valósul meg a kivülről érkező jel átvitele a plazmamembránon keresztül a sejt belsejébe, milyen mechanizmus/ok/ vesznek részt a sejtdifferenciálódás és proliferáció meginditásában, e folyamatok szabályozásában. Ezeknek az alig ismert mechanizmusoknak vizsgálatára széles körben nyert alkalmazást a mitogén lektinekkel stimulált limfocita. A mitogénnek plazmamembrán receptorához kötődését követően ugyanis olyan metabolikus esemény-sor indul meg, amely végül a sejt növekedéséhez, osztódásához és uj funkciók megjelenéséhez vezet. A mitogén kötődését követő legkorábbi változások magában a plazmamembránban alakulnak ki; fokozódik a membrán fluiditása, permeabilitása számos anyagra nézve, változik a membrán-kötött enzimek aktivitása. Többek között emelkedik a /Na^++K^+/ATPáz és a - más sejtekkel ellentétben limfocitában plazmamembránban lokalizált - lizolecitin aciltranszferáz aktivitása. Utóbbi enzim a plazmamembrán foszfolipid anyagcseréjének fokozódásáért felelős stimulált limfocitában.

A mitogén /concanavalinA / kötődésének és a lizolecitin aciltranszferáz aktiválódásának kinetikáját elemezve megállapitották, hogy disszociációs konstansuk lényegesen különbözik egymástól, ami arra utalt, hogy az enzim aktivitásának fokozódása a sejtfelszinen esetlegesen jelenlevő nagy affinitásu mitogén receptorral való kölcsönhatás eredménye.

A feltételezés igazolására borju timuszból izolált limfociták tisztitott plazmamembrán vezikuláit affinitás-kromatográfiával két alfrakcióra választottuk szét conA-sepharosen. A membránvezikulák 65%-a nem kötődött, a kizárási térfogatban jelent meg /MF_1 frakció/; az össz membránfehérje 25%-a viszont kötődött a matrix-kötött conA-hoz és csak α-metil- mannoziddal volt leoldható /MF_2 frakció/. Kontroll kisérletek szerint a két plazmamembrán alfrakció vezikulái a fiziológiásnak megfelelően orientáltak, mivel az MF_2 frakció conA-sepharose-hoz kötődött, a plazmamembránból és az MF_1 frakcióból neuraminidáz hatására azonos mennyiségü sziálsav szabadult fel mg fehérjére számitva. Mindkét alfrakció a T limfocita sejtfelszini membránjából származott, erre utalt a plazmamembránban és a két alfrakcióban a koleszterin és fosz-

folipid moláris arányának azonossága s a conA-receptorok közel azonos száma. Az MF_2 frakció viszont minőségileg különbözött az MF_1 frakciótól. Az affinitási gélhez kötődő frakció conA receptoraiinak asszociációs konstansa közel 3.5-ször nagyobb volt, mint az MF_1 frakció receptoraiéi. A membránkötött enzimek közül a /Na^++K^+/ATPáz és a lizolecitin aciltranszferáz specifikus aktivitása az MF_2 frakcióban többszörösnek bizonyult az MF_1-hez képest. Mitogén stimuláció hatására a membrán kötött enzimek aktivitása speciális módon változott: a plazmamembránban egyenletesen megoszló Mg^{2+}-ATPáz, alkalikus foszfatáz és γ-glutamil transzferáz aktivitása mindkét alfrakcióban közel azonos módon csökkent; az MF_2 frakcióval, azaz a nagy affinitásu mitogén receptorral asszociált két enzim, a /Na^++K^+/ATPáz és a lizolecitin aciltranszferáz aktivitása ezzel szemben két-háromszorosára emelkedett, különösen az MF_2 frakcióban. / Anal. Biochem. 117. 282 - 292. 1981./

A lizolecitin aciltranszferázról tudjuk, hogy mitogén stimulust követően a lecitin zsirsavoldalláncait szelektiven hosszu szénláncu telitetlen zsirsavakra cseréli ki. A plazmamembrán szerkezetét és müködését a plazmamembrán foszfolipidek,hidrofób kölcsönhatásaik révén pedig különösképpen azok zsirsav oldalláncai alapvetően befolyásolják. Kézenfekvő tehát a feltételezés, hogy a nagy affinitásu receptorral asszociált lizolecitin aciltranszferáz mitogén kötődést kisérő aktiválódása, a membrán foszfolipidek telitetlen zsirsavtartalmának növekedése a teljes membrán funkcionális változását okozhatja. A feltételezést igazolni látszanak azok a kisérleti eredményeink, amelyeket lizolecitin aciltranszferáz segitségével hosszu szénláncu zsirsavakkal módositott plazmamembránban nyertünk. A lizolecitin aciltranszferáz lizolecitinből és hosszu szénláncu zsirsavakból lecitint szintetizált, s azt plazmamembrán vezikulákba épitette be. Az önmagában alkalmazott lizolecitin, a hosszu szénláncu zsirsavak / palmitinsav, olajsav, linolsav és arachidonsav/, valamint a membrán lecitinbe épült palmitinsav nem hatott a plazmamembrán kötött enzimek specifikus aktivitására. A membrán lecitinbe épült többször telitetlen linolsav és arachidonsav ezzel szemben koncentráció függően módositotta a membrán-kötött enzimek aktivitását. A vizsgált enzimek aktivitásváltozásának maximumát - a kisérleti körülményektől függően - 15o-2oo nmol/mg fehérje lecitinbe épült többször telitetlen zsirsav mennyiségnél mértük. Ebben a koncentráció tartományban a /Na^++K^+/ATPáz specifikus aktivitása a kontroll kétszeresére emelkedett, a Mg^{2+}-ATPáz és a γ-glutamil- transzferáz aktivitása viszont szignifikánsan csökkent.Különösen érdekes, hogy a lizolecitin aciltranszferáz aktivitása is fokozatosan emelkedett, majd maximális értéket ért el 15o - 2oo nmol/mg fehérje lecitinbe épült linolsav és arachidonsav koncentráció mellett. Mivel az összes mért membrán kötött enzim aktivitása a kontroll értékre tért vissza abban az esetben, ha nagy

mennyiségü többször telitetlen zsirsav épült membrán lecitinbe, feltételezzük, hogy az enzimek specifikus aktivitásának változása nem a membrán fluiditás, hanem specifikus lipid- fehérje kölcsönhatások függvénye. A feltevést alátámasztja, hogy az egyszer telitetlen olajsav membrán lecitinbe épülése is fokozza a membrán fluiditását, azonban a mért membrán kötött enzimek aktivitását csak kis mértékben befolyásolta. / J. Biol. Chem. 256. 11618 - 11623. 1981/ A hosszu szénláncu telitetlen zsirsavakkal módositott membránban az enzimek aktivitás változásának iránya és maximális értéke szinte teljesen megegyezett azokkal a specifikus aktivitás változásokkal, amelyeket mitogénnel stimulált limfocitákból izolált plazmamembránban mértünk. A plazmamembrán foszfolipidek telitetlen zsirsavtartalmának változása enzimatikusan módositott membránvezikulákban és mitogénnel stimulált limfociták plazmamembránjában közel azonos mértékü volt. / Biochim. Biophys. Acta, 1981. közlés alatt./

Mint fent emlitettük, a nagy affinitásu receptorral asszociált másik enzim a /Na^++K^+/ATPáz. A mikroanatómiai közelség a funkcionális kölcsönhatás lehetőségét vetette fel a transzport ATPáz és a lizolecitin aciltranszferáz között. A kérdés tisztázására irányuló kisérleteinkben megállapitottuk, hogy a /Na^++K^+/ATPáz specifikusnak tartott gátlószere a strofantin g olyan koncentrációban gátolja a stimulált sejtek makromolekula szintézisét, amely a sejt intracelluláris kálium koncentrációjának megváltoztatására még nem képes. / Biochim. Biophys. Acta, 633. 347 -36o. 1981./ A glikozid a sejtek makromolekula szintézisét a sejtciklus folyamán eltérő mértékben befolyásolta; az RNS szintézis gátlásának kinetikája arra mutatott, hogy a glikozid "korai" membránfolyamatot gátolva fejti ki hatását a stimuláció folyamatára.

A strofantin koncentráció függően gátolta a stimulált limfociták jelzett olajsav inkorporációját ép sejtekben és izolált plazmamembránban egyaránt. Az olajsav membrán lecitinbe épülését és a stimulált sejtek makromolekula szintézisét gátló strofantin koncentrációk megegyeztek. A strofantin nyugvó sejtekben sem a protein és nukleinsav szintézist, sem a membrán foszfolipid anyagcserét nem befolyásolta. / Biochim. Biophys. Acta, 647. 297 - 3ol. 1981/ A /Na^++K^+/ATPáz conA stimulus hatására kialakult aktivitás fokozódását a strofantin idő és koncentrációja függvényében gátolta, s egyben megakadályozta a lizolecitin aciltranszferáz aktivitásának emelkedését is a stimulált limfocita plazmamembránjában.

Kontroll kisérletek szerint a strofantin makromolekula szintézisre és membrán foszfolipid anyagcserére kifejtett gátló hatása nem aspecifikus mellékhatás következménye, mivel a glikozid kötődés csökkenésével párhuzamosan az RNS és DNS szintézis, a stimulált olajsav beépülés strofantin okozta gátlása felfüggeszthető volt. Izolált membránban a glikozid nem hatott a lizolecitin

aciltranszferáz specifikus aktivitására, ami egyben arra utal, hogy a strofantin a lizolecitin aciltranszferáz aktiválódását akadályozza specifikusan a stimulált sejt membránjában./ J. Biol. Chem. 256. 9198 - 9204. 1981./

Kisérleti eredményeink alapján feltételezzük, hogy:

1. A limfocita sejtfelszini lektin receptorainak kisebb hányada az, amely olyan effektor - regulátor rendszerrel áll kapcsolatban, mely a mitogén kötődését követően a biológiai válasz kialakulásában szerepet játszhat. A limfocita plazmamembránjában a nagy affinitásu mitogén receptort olyan specializálódott membránterületek veszik körül, amelyek mind szerkezetükben, mind működésükben különböznek a membrán egyéb területeitől, mintegy funkcionális mozaikot alkotva a limfocita plazmamembránjában.
2. A lizolecitin aciltranszferáz mitogén kötődést követő aktiválódása a membrán foszfolipidek többször telitetlen zsirsavtartalmának megváltoztatása révén a membrán fluiditás és permeabilitás megnövelésén tul specifikus lipid - fehérje kölcsönhatások révén a plazmamembrán kötött enzimek aktivitásának változásához vezet. A plazmamembrán foszfolipid anyagcseréjének fokozódása, a lizolecitin aciltranszferáz szigoruan irányitott, szelektiv működése következtében kialakuló minőségileg uj lipidfázis olyan jelerősitő-amplifikáló rendszerként működhet, amely a mitogén kötődést követő membrán funkció változások kialakitásában, s egyuttal a plazmamembránon keresztül történő jel átvitelében is lényeges szerepet játszhat.
3. A lizolecitin aciltranszferáz és a /Na^++K^+/ATPáz szoros funkcionális kölcsönhatásban működik a limfocita plazmamembrán speciális funkciókra szerveződött membránterületein, s ily módon a sejt differenciálódásának, növekedésének és osztódásának plazmamembrán szintü szabályozásában alapvető szerepet tölthet be.

Tudományos közlemények

1. Szamel,M., Somogyi,J., Csukás,I. and Solymosy, F. / 1980/
Effect of ouabain on macromolecular synthesis during the cell cycle in mitogen stimulated human lymphocytes
Biochim. Biophys. Acta, 633. 347 - 360.
2. Szamel,M. and Resch, K. / 1981/
Inhibition of lymphocyte activation by ouabain - interference with the early activation membrane phospholipid metabolism
Biochim. Biophys. Acta, 647. 297 - 301.

3. Szamel, M., Schneider, S. and Resch, K. / 1981/
Functional interrelationship between /Na^++K^+/ATPase and lysolecithin acyltransferase in plasma membranes of mitogen stimulated rabbit lymphocytes
J. Biol. Chem. 256. 9198 - 92o4.

4. Szamel, M. and Resch, K. / 1981/
Modulation of enzyme activities in isolated lymphocyte plasma membranes by lysolecithin acyltransferase dependent modification of phospholipid fatty acids
J. Biol. Chem. 256. 11618 - 11624.

5. Resch,K., Schneider, S. and Szamel, M. / 1981/
Separation of right-side out oriented subfractions of purified lymphocyte plasma membranes
Anal. Biochem. 117. 382 - 392.

6. Rode, H.N., Szamel,M., Schneider,S. and Resch, K. / 1981 /
Preferential incorporation of polyunsaturated fatty acids into plasma membrane phospholipids in concanavalin A- stimulated lymphocytes
in Mechanism of lymphocyte activation / Resch, K. and Kirchner, H. eds./
Elsevier North Holland, Amsterdam, 242 - 245. old.

7. Resch, K. and Szamel, M. / 1981/
Modulation of enzyme activities in isolated lymphocyte plasma membranes by lysolecithin acyltransferase dependent modification of phospholipid fatty acid composition
in Mechanism of lymphocyte activation / Resch, K. and Kirchner, H. eds./
Elsevier North Holland, Amsterdam, 2o6 - 2o9. old.

8. Szamel, M. and Resch, K. / 1981/
Ouabain inhibits lymphocyte activation by interfering with the early activation of membrane phospholipid metabolism
in Mechanism of lymphocyte activation / Resch, K. and Kirchner, H. eds./
Elsevier, North Holland, Amsterdam, 242 - 248. old.

9. Rode, H.N., Szamel, M., Schneider,S. and Resch, K. / 1982/
Phospholipid metabolism of stimulated lymphocytes. Preferential incorporation of polyunsaturated fatty acids into plasma membrane phospholipid upon stimulation with concanavalin A.
Biochim. Biophys. Acta, közlés alatt.

A patkány vesicula seminalis citoplazmatikus androgén receptorának jellemzése

Zakár Tamás, Semmelweis Orvostudományi Egyetem, I.sz. Kémiai-Biokémiai Intézet.

Kasztrált patkányok vesicula seminalisaiból preparált sejtmentes kivonatokban androgéneket nagy affinitással kötő, hormonreceptor jellegü makromolekulák találhatók. 1977 óta foglalkozunk ezen receptor molekulák rendszeres vizsgálatával. Ekkorra vált ugyanis világossá, többek között saját laboratóriumunkban végzett korábbi kisérletek alapján is, hogy a vesicula seminalis egyike a legelőnyösebb kisérleti objektumoknak az androgén hormonok specifikus fehérjék szintézisét szabályozó funkciójának tanulmányozásához. Az is kitünt továbbá, hogy a prosztata, amelyen az androgén receptorokkal kapcsolatos vizsgálatok tulnyomó többségét végezték, csak kevéssé alkalmas az androgén hormonhatás további aspektusainak kutatására.

Az ondóhólyag androgén receptorairól nagyon hézagos tudással rendelkeztünk. Kisérleteinkben ezért a vesiculáris androgén receptort néhány fontosabb szempontból karakterizáltuk:

/1/. Az 5α-dihidrotesztoszteron /DHT/ és a tesztoszteron /T/ kötődési reakcióinak kinetikai jellemzői $0^{o}C$-on.

/2/. Stabilitás ligandummentes állapotban.

/3/. Fizikokémiai tulajdonságok, különös tekintettel az androgén-receptor komplexek szedimentációjára.

/4/. Funkcionális tulajdonságok: androgének receptor-dependens fölvétele célszervből preparált magokba.

/5/. Ligandumspecifitás kompeticiós kisérletekben.

Receptorpreparátumként kasztrált patkányok homogenizált vesicula

seminalisainak posztmitokondriális felülusszóját /PMS/ használtuk. A PMS-t ^{3}H-DHT vagy ^{3}H-T jelenlétében inkubáltuk, majd a nem kötődött szteroidokat aktiv szénnel eltávolitottuk a reakcióelegyekből. Az aspecifikus kötést a megfelelő jelzetlen szteroid fölöslegének jelenlétében mértük, és értékét az összkötésből levonva kaptuk meg a specifikus, azaz receptor kötést.

Eredményeink az alábbiakban foglalhatók össze:

ad /1/. 4 nM ligandum koncentráció mellett, a ^{3}H-DHT és ^{3}H-T specifikus kötése egyaránt 6o-9o perc után érte el maximumát. Telitési analizist /Scatchard/ végezve, mindkét jelzett androgén esetében kinetikailag egyfajta kötőhelyet detektáltunk; az egyensulyi disszociációs konstans 1 nM-nak /^{3}H-DHT/, illetve 1,7 nM-nak /^{3}H-T/ adódott. A két szteroid receptorral való asszociációja másodrendü kinetikát követett; az asszociációs sebességi állandók között szignifikáns különbség nem volt. A komplexek viszonylag lassan, elsőrendü kinetika szerint disszociáltak; a ^{3}H-DHT-receptor komplexek felezési ideje /17 óra/ jelentősen meghaladta a ^{3}H-T-receptor komplexekét /5,4 óra/. A sebességi állandókból számitott egyensulyi disszociációs konstansok mindkét szteroidnál 1-2 nagyságrenddel alatta maradtak ugyanezen állandók Scatchard-analizissel meghatározott értékeinek. A különbség döntő mértékben a szaturációs analizis pontatlanságának tulajdonitható kisérleti körülményeink között.

ad /2/. A PMS-t 0°C-on, ligandum nélkül inkubálva a specifikus androgén kötőhelyek spontán inaktiválódtak. Az inaktiválódás kinetikailag elsőrendü folyamatnak bizonyult, sebességi állandója o,33 h^{-1} volt, ami 2,1 órás felezési idővel egyenlő. A ^{3}H-DHT és ^{3}H-T specifikus kötőhelyei inaktiválódás szempontjából teljesen azonosan viselkedtek.

ad /3/. A jelzett androgéneket tartalmazó komplexeket teljes mértékben vissza lehetett kapni a ^{3}H-DHT-nal vagy ^{3}H-T-nal előinkubált PMS-ből preparált citoszól frakcióban. A ^{3}H-DHT-receptor komplex ammónium szulfát 33%-os telítésü oldatában kicsapódott, és feloldás után o,4 M NaCl tartalmu szaharóz sürüséggrádiensben 3,1 S szedimentációs konstansnak megfelelő sebességgel ülepedett. A jelzett DHT-t és T-t tartalmazó komplexek szedimentációs konstansát az ammónium szulfátos kicsapás mellőzésével, a citoszólból is meghatároztuk, ekkor mindkét androgén esetében 4 S értéket kaptunk. A kötött T nagy része a centrifugálás folyamán disszociált.

ad /4/. DHT-receptor vagy T-receptor komplexeket tartalmazó vesicularis PMS-t, valamint hormon tartalmu médiumot különféle szervekből származó durva magfrakciókkal inkubáltunk. Azt tapasztaltuk, hogy az androgén hormonok PMS jelenlétében specifikusan kötődtek a célszervből származó sejtmagokhoz. Azonos körülmények között a DHT PMS-dependens fölvétele vesicula seminalis magokba kb. kétszerese volt a tesztoszteronénak.

Mindez arra mutat, hogy a vesicularis PMS-ben kimutatható androgénkötő makromolekulák nemcsak kinetikai és fizikokémiai tulajdonságaik alapján tekinthetők androgén hormonreceptoroknak, hanem képesek a receptorfunkció ellátására is.

ad /5/. Összesen 22 szteroid ^{3}H-DHT-nal való kompeticióját határoztuk meg. A kompetitorok között androgének, antiandrogének, anabolikumok, ösztrogének, progesztagének, gluko- és mineralokortikoidok voltak. Minden szteroiddal két kompeticiós görbét vettünk fel 0°C-on, az egyiket rövid /1 órás/, a másikat hosszu /67 órás/ inkubációs idővel. Ez a kisérleti elrendezés

lehetővé tette, hogy a szteroid-receptor kölcsönhatás asszociációs és disszociációs részreakcióinak ligandumspecifitását külön-külön vizsgáljuk.

Kompeticiós viselkedés szempontjából a vizsgált szteroidok három csoportra oszthatók. Az első csoportba azok a vegyületek tartoznak, amelyek receptorral való asszociációjának és disszociációjának sebessége közel áll a ^{3}H-dihidrotesztoszteronéhoz. A másik csoportot azok a szteroidok alkotják, amelyek képesek ugyan asszociálódni a receptorral, de a létrejövő komplexek sokkal kevésbé stabilak, mint a ^{3}H-DHT-receptor komplex. A harmadik csoport tagjai nem kötődtek kimutatható mértékben a receptorhoz. A kompetitorok kötődési sajátságai és kémiai szerkezete között korrelációk mutatkoztak, melyek lehetőséget adtak arra, hogy megitéljük a szteroid váz bizonyos szubsztituenseinek jelentőségét a receptorral való kölcsönhatásban. Hasonlóképpen, a biológiai hatások és a kompeticiós viselkedés is összefüggéseket mutatott, ami arra utal, hogy a receptorral való kötődés kinetikája jelentősen befolyásolhatja a szteroidok in vivo hatásait.

A munkával kapcsolatos közlemények jegyzéke.

Zakár, T.,Tóth,M. /1977/: Characterization of the cytoplasmic androgen receptor of rat seminal vesicle. Steroids 3o: 751-764

Zakár,T.,Tóth,M. /198o/: Studies on the androgen receptor of the rat seminal vesicle: Comparison of the binding characteristics of dihydrotestosterone and testosterone. J.steroid Biochem. 13: 743-75o

Zakár,T.,Tóth,M. /1982/: Steroid-binding properties of the rat seminal vesicle androgen receptor: Short-term and long-term competition of various steroids with radioactive dihydrotestosterone. J.steroid Biochem. /közlésre elfogadva/.

Zakár,T.,Tóth,M. /1982/: Steroid-binding properties of the androgen receptor of rat seminal vesicle. Endokrinologie /előadás teljes anyaga közlésre elfogadva/.

Előadáskivonatok:

Zakár,T.,Tóth,M./1977/: Binding reaction of 5α-dihydrotestosterone in a cell-free extract of rat seminal vesicle. Proc.17th Hung.Ann.Meet.,Biochem.,Kecskemét,1977. pp.1o3-1o4

Zakár,T.,Tóth,M./1981/: The ligand-specificity of the androgen receptor of rat seminal vesicle: Correlations between steroid structure and binding properties. Drugs, Biochem. Metab.,Mátrafüred, 1981. pp.121-124

Egyesületi feladatok

MTESZ AZ ENERGIATAKAKARÉKOSSÁGÉRT

A Müszaki és Természettudományi Egyesületek Szövetségének felhivása a magyar müszaki, gazdasági, agrár és természettudományi szakemberekhez energiatakarékossági javaslatok

kidolgozására

A "MTESZ az energiatakarékosságért" cimmel meghirdetett pályázati rendszerben 1980-81. évben beérkezett 435 db pályázatban a szakemberek sok hasznos javaslatot tettek és számos lehetőséget tártak fel a népgazdaság energiahordozó felhasználása csökkentésére.

Az eddigi kedvező tapasztalatok alapján a MTESZ Elnoksége ismét meghirdeti az energiatakarékossági pályázatot. Az uj kiirásban a pályázati feltételek pontosabb meghatározása mellett fokozott figyelmet kap az egyéni kezdeményezés.

A MTESZ külön figyelmet kiván forditani a megvalósitás lehetőségeinek kidolgozására, és ennek megfelelően határozta meg a pályázat uj szakaszának feltételeit.

A pályázat célja:

Olyan reálisan és rövid időn belül megvalósitható szervezési intézkedések, üzemviteli vagy technológiai eljárások, uj konstrukciók, berendezések, készülékek kidolgozásának és megvalósitásának ösztönzése, amelyekkel az energiagazdálkodási kormámyprogram végrehajtása meggyorsitható vagy hatékonysága növelhető.

Ezen belül a fő feladatok:

- technológiai folyamatok fajlagos energiaszükségletének csökkentése;
- bármely egyéb célu energiafelhasználás csökkentése;

- import energiahordozók kiváltása hazai energiahordozókkal;
- hulladékok és helyi, eddig kihasználatlan energiaforrások hasznositása.

A pályázat feltételei:

1. A pályázaton csak müszakilag kidolgozott és gazdasági számitással /mérhető értékek alapján/ alátámasztott javaslatok birálhatók el. Nem müszaki javaslat esetében /pl. szervezési, ügyviteli stb./ pontosan ki kell dolgozni a szervezeti vagy ügyviteli változtatást, annak ellenőrzését stb. Nem kellően kidolgozott javaslatok elbirálására nincs lehetőség. Amennyiben a javaslat csak ötlet, de alapgondolata figyelemreméltó, azt a MTESZ VB által kijelölt Biráló Bizottság a MTESZ szakmailag illetékes tagegyesületének adja át további vizsgálatra, esetleg kidolgozásra.

2. Népgazdasági szintü gazdaságpolitikai döntést igénylő javaslatok a pályázat keretében nem értékelhetők, ezeket azonban a Biráló Bizottság megfelelő javaslatával ellátva a MTESZ az illetékes főhatósághoz továbbitja.

3. A népgazdasági tervben vagy az energiagazdálkodási kormányprogramban szereplő feladat megoldására vonatkozó javaslat csak akkor értékelhető, ha az a meghatározott feladat meg nem oldott részére tartalmaz konkrét megoldást vagy megvalósitható uj eljárást.

4. A beküldött javaslatoknak tartalmazniuk kell a megvalósitás reális lehetőségét és idejét, természetesen a korábbiakban előirt kidolgozottsággal. Az értékelés során előnyös helyzetben vannak a vállalati szinten, saját eszközökkel megvalósitható eljárások.

5. Pályázni lehet már megvalósitott javaslatokkal is, amennyiben a megvalósitás egy évnél nem régebbi és a megoldás a korábbi pályázat során még nem szerepelt.

6. A pályázaton csak természetes személy /vagy személyek/ vehetnek részt. Jogi személy /vállalat, intézmény/ pályázata nem

fogadható el. Nem fogadható el jogi személy kezdeményezésére vagy utasitására hivatásszerü tevékenység keretében végzett munka, még természetes személy nevével sem.

7. A pályázatok elbirálása, jutalmazása, dijazása vagy hasznositását szorgalmazó továbbitása MTESZ részéről nem érinti a pályázó ujitási vagy találmányi jogait. Amennyiben a pályázatra beadott javaslat találmány vagy ujitás tárgyát képezi, ugy azt a pályázó a javaslaton tüntesse fel.

8. A pályázatot jeligével ellátva, a pályázó nevét tartalmazó jeligés boriték melléklésével az Energiagazdálkodási Tudományos Egyesület Titkárságára kell beküldeni. Cim: 1055 Budapest, Kossuth Lajos tér 6-8. I.emelet 113. /Telefon: 12o-855/ Postai cim: Budapest, Pf.451. 1372

9. A pályázatokat a MTESZ VB által megbizott Biráló Bizottság folyamatosan értékeli és továbbitja az érdekelt vállatoknak, intézményeknek bevezetés, illetve a hatóságoknak intézkedés céljából; a Biráló Bizottság még az eredményhirdetés előtt a hasznositásra javaslatot tesz.

10. A MTESZ a tárgyév október 1-ig beérkezett, értékelt és hasznositható javaslatok közül a legjobbakat évente egy alkalommal dijazásban vagy jutalomban részesiti, és erről a pályázót értesiti.

A kitüzött dijak :	**I.dij**	**50.000 Ft**
	II.dij	**30.000 Ft**
	III.dij	**20.000 Ft**

A dijak megoszthatók. A kiadásra kerülő dijak számát az elbirált javaslatok száma és értéke szerint a Biráló Bizottság állapitja meg. A dijakon kivül a Biráló Bizottság egyes javaslatok benyujtóit jutalomban részesiti.

A dijakat és jutalmakat a MTESZ a tárgyév december 31-ig ünnepélyesen osztja ki.

FEBS

15th FEBS Meeting
Brussels, Belgium, 24-29 July 1983

The Belgian Biochemical Society has pleasure in inviting all the members of the Federation of European Biochemical Societies (FEBS) as well as all the interested scientists to the 15th meeting of their federation.

SCIENTIFIC PROGRAMME

It will include plenary lectures, invited lectures on the selected topics listed below and poster sessions on all aspects of biochemistry.

Selected topics (tentative number of half-day sessions in parentheses):

1. Gene organization, replication and expression (8)
2. Molecular and cellular immunology (5)
3. Biological membranes (5)
4. Enzymology and metabolic regulations (5)
5. Structure and activity of proteins and peptides (4)
6. Cell communication and regulation (4)
7. High-order structures and assembly (3)
8. Protein synthesis, modifications and secretion (3)
9. Bioenergetics (3)
10. Biochemistry and molecular biology of plants (3)
11. Biotechnology (3)
12. Neurobiochemistry and receptors (2)
13. Metabolism of xenobiotics (2)
14. Cell multiplication and differentiation (1)
15. Biochemistry of parasites (1)
16. Molecular evolution (1)
17. Models and computer methods (1).

GENERAL INFORMATION

Dates
From Sunday 24th to Friday 29th July 1983.

Place
Brussels International Conference Centre.

Pre-registration
Please cut, complete and return the aside pre-registration form before 1st August 1982.
Do not forget to indicate the topic(s) of particular interest to you.

Second Announcement
The second announcement, containing more detailed information on the scientific programme, will be forwarded by the end of 1982 to all who have returned the pre-registration form. It will include the instructions to the authors of abstracts and the final registration forms, as well as further information on the accommodation facilities and the social programme.

Abstracts
The abstracts, typed on the special frame sheet, will have to reach the Meeting Secretariat before 1st March 1983.

Exhibition
A technical and book exhibition will be organised in the very site of the meeting.

Secretary General of the meeting
Prof. Eric Schram.

For all correspondence and inquiries:
15th FEBS Meeting
Brussels International Conference Centre
Parc des Expositions
B-1020 BRUSSELS (Belgium)
Phone (32-2) 478.48.60
Telex 23 643

BESZÁMOLÓ TUDOMÁNYOS találkozókról

SPECIAL F E B S Meeting on Cell Function and Differentiation

1982 április 25-29, Athén

A már lassan hagyományosnak mondható speciális FEBS kongresszusok sorában az ezévinek témája elsősorban a sejt differenciálódás és az azt érintő regulációs folyamatok volt. A fő témát 16 szimpozionba és a hozzájuk kapcsolódó posterekbe csoportositották. A szimpozionok cime :

1. Az eukariota gén szerkezete és kifejeződése.
2. „B" sejt differenciálódás és ellenanyagtermelés.
3. Eritroid sejt differenciálódás.
4. Sejtszeparálás és jellemzés.
5. Hormonok és sejtdifferenciálódás.
6. Növekedési faktor és sejtszaporodás.
7. Energia-transzdukciós membránok.
8. Fotoszintetizáló mikroorganozmusok sejtdifferenciálódása.
9. Membrán és fehérje energetika.
10. Liposzómák,mint membránmodellek és szerepük a sejtfunkcióban.
11. A sejtmembrán-szénhidrátok.
12. Enzim - fehérje szerkezet, funkció és mechanizmus.
13. Nukleinsav-anyagcsere enzimek szerepe a sejt müködésében és differenciálódásában.
14. Regulációs mechanizmusok a fehérje-foszforiláció és defoszforiláció tükrében.
15. Aminosavak, ketontestek és glukóz metabolikus szabályozása különféle szövetekben.
16. A sejtek kölcsönhatása közvetlen környezetükkel.

A kongresszus központja a Hilton szallóban volt, a kisebb szimpozionok két másik közeli épületben zajlottak. Nagyon jó megoldásnak tartom, hogy a postereket 24 órán át lehetett megtekinteni és a poster-vitákat az esti órákban tartitták. Az összefoglaló viták hangulatát egyértelmüen a vitavezető határozta meg. Az S-2 témához kapcsolódó poszter-vita,amelyen részt vettem, szerintem nagyon jól sikerült,de ellenkező véleményt is hallottam egyes kollégáktól.Az

előadások technikai lebonyolitásában időnként előfordultak ugyan kisebb bökkenők,de ezeket feledtetni tudta a rendezők segitőkészsége és nem utolsó sorban a csodálatos müemlékek, a város atmoszférája.

Érdeklődésemnek megfelelően az 1.,2.. és 13.szimpozion eseményeit igyekeztem követni. Sajnos azonban,hogy ezek gyakran egyidőben zajlottak, igy csak impressziót kaptam a molekuláris biológia jelenleg legforrongóbb - és véleményem szerint - legizgalmasabb területéről. Az eukariota génszerkezet és génmüködés legjelentősebb kutatói közül csak néhányan jöttek el / TONEGAWA - USA, ZACHAU - NSZK /, mégis meg tudták éreztetni a hallgatósággal azt, hogy a molekuláris biológia uj forradalmát éljük : az eddig rendkivül stabilnak hitt DNS-ről kiderült, hogy a sejtdifferenciálódás és a funkció során állandó "átrendeződésen" megy át az eukarioták és bizonyos szempontból még a prokarioták esetében is. Az eukariota gének uj arcának megismeréséhez azok az uj technikák segitették a kutatókat,amelyekért az elmult években Nobel-dijat kaptak a felfedezőik. Ezek az uj módszerek :

a DNS rekombináció vagy génmanipuláció,
a DNS szekvenálás és
a DNS szegmentek funkcionális vizsgálata az un.Southern-féle technikával /lényege a nukleinsav hibridizálás/.

E három uj technika segitségével ma egy sor eukariota fehérjéről kideritették, hogy a DNS kódja nem folyamatos nukleotid szekvenciában van rögzitve. A fehérje kódja meg van szakitva át nem iródó szekvenciákkal /intronokkal/, amit követ egy ujabb átiródó /exon/ szekvencia. Az immunglobulin gének és a hemoglobin gének szerveződéséről a sejtdifferenciálódás alatt figyelemre méltó összefoglalók hangzottak el.

Az immunglobulin gének kialakulása terén elért eredmények - véleményem szerint - a biokémiai kutatás mai legjelentősebb eredményei. Ezt a véleményt a poster-vitánkat vezető svéd immunologus professzor, A.COUTINHO, aki különben az Athéni Kongresszus tiszteletdiját is megkapta, igy fogalmazta meg : „A biokémikusok ujra legyőzték az immunológusokat. Ma már mindent tudnak az immunglobulin DNS-ről, de mi semmit sem tudunk arról, mitől differenciálódik egy B-limfocita immunglobulint termelő sejtté." Az elkövetkező évek orvosi és kémiai Nobel-dij várományosai nagy valószinüséggel ennek a területnek

a legjelesebb müvelői közül kerülnek majd ki. Az immunologiai témáknak a biokémiába való "betörését" a jövő évi brüsszeli FEBS kongresszus programjában szereplő immunologiai vonatkozásu szimpozionok is mutatják.

A hemoglobin génekről tartott előadás /D.KIONSSIS - Anglia/ nem adott átfogó képet az α és β lánc génjeiről,azok átirásáról, stb.,amiről pedig az utobbi években sok érdekes munka látott napvilágot. Az inkább saját kisérleteiről szóló beszámolójából az derült ki, hogy a thalassaemiában szenvedő betegek β globin lánc génjéről in vitro szintetizált fehérje tökéletes, nem tartalmazza azt az aminosavcserét,amit a beteg β haemoglobin lánca tartalmaz. A DNS másodlagos szerkezetét tette felelőssé a hibás fehérjeszintézisért, ez azonban csak feltételezés.

A kongresszuson nem tisztázódott a biológusok ma talán legnagyobb problémája : mi a gén molekuláris értelmezése ma az eukariotákban ? Az azonban világosan kitünt, hogy nem lehet ma immunglobulin vagy haemoglobin génről beszélni olyan értelemben, mint amit a gén egy prokariota sejtben jelent. Az immunglobulinok és más fehérjék génjei is számos génszakaszból állanak, amelyek a sejtek differenciálódása során egymáshoz egyre közelebb kerülnek. A génszakaszokat elválasztó, át nem iródó DNS szakaszok eliminálódnak és végül részben DNS-szinten, részben pedig az RNS érés során megjelenik az érett mRNS, amely most már csak a fehérjének megfelelő információt tartalmazza.

A megszakitott eukariota géneken kivül a kongresszuson foglalkoztak a DNS-ben helyüket változtató elemekkel, az un. „transzpozonok"-kal is, amelyeket néhány évvel ezelőtt baktériumokban találtak meg. Most eukariotákban is találtak hasonló, át nem iródó szekvenciákat, amelyek a differenciálódás során a genom más-más részében mutathatók ki / ZACHAU - NSZK /.

Mint a legtöbb beszámoló, ez is szubjektiv, benne van a saját véleményem és rangsorolásom. A többi szimpozion is bizonyára tartalmazott izgalmas és uj eredményeket. Lelkes beszámolókat hallottam fiatal magyar kollégáktól a liposzómák alkalmazásának lehetőségeiről, ami a kongresszusnak szintén egyik fontos témája volt.

Nagyon sok érdeklődő hallgatta a Nobel-díja MITCHELL professzor előadását, amit „ Ozmoenzimológia : molekuláris gépek" cimmel tartott.

Bár az előadás didaktikai szempontból nem volt jó / halkan beszélt, olvasta mondanivalóját és kifutott az időből,stb. /, a légkörből érezni lehetett, hogy mondanivalója volt a hozzáértők számára. Didaktikai szempontból is nagyon világos és jó előadást tartott hazánk egyetlen meghivott képviselője, FONYÓ Attila professzor „ A mitokondrium foszfát-transzporteren keresztül müködő proton ciklus az energia transzdukcióban" c.témáról.

Befejezésül : Nem bántam meg, hogy Athén megtekintését ehhez a kongresszushoz kapcsoltam, bár - természetesen - kényelmesebb lett volna csak turistáskodni Görögországban. Ez a kongresszus megerősitette bennem azt a kialakulóban lévő uj szemléletet, hogy az eukarioták génmüködésének megértéséhez meg kell változtatnunk a génről kialakitott eddigi elképzeléseinket.

STAUB Mária

oooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooooo

DIDEROT : GONDOLATOK A TERMÉSZET ÉRTELMEZÉSÉRŐL /1754/ +

VII.

Ameddig a dolgok csak értelmünkben vannak, véleményeinknek nevezzük őket; olyan ismeretek ezek, amelyek igazak vagy hamisak lehetnek,elfogadhatók vagy ellentmondást váltanak ki. De csak akkor izmosodnak meg és akkor öltenek testet, ha a külső valósághoz alkalmazkodnak. Ez a kapcsolat háromféle módon lehetséges : vagy kisérletek megszakitatlan sora által, vagy az okoskodások olyan megszakitatlan sora által, amely egyik végén megfigyelésre, a másik végén pedig a kisérletre támaszkodik, vagy pedig a kisérletek olyan láncolata által,amelyet helyenként az okoskodások közé iktattunk, ahogy a két végén kifeszitett zsinegre bizonyos közökben sulyokat szoktunk erősiteni. Ezek nélkül a nehezékek nélkül a zsineg játékszere lenne a levegőben keletkező legcsekélyebb fuvallatnak is.

VIII.

Az olyan ismereteket,amelyeknek a természetben nincs alapjuk, azokhoz az északi erdőkhöz hasonlithatjuk,melyek fáinak nincsenek mély gyökerei.Elég egy szélroham, elég egy csekélyke ténybeli adat és felforgatja, kitépi az egész szálfa- és eszmeerdőt.

+CODEX Kiadás,Pannonia Könyvnyomda Vállalat,Debrecen. 1943. Csehi Gyula forditása.

A

XII. MEMBRÁN - TRANSZPORT KONFERENCIA Sümegen, 1982

május 10 - 14

között került megrendezésre a Magyar Élettani Társaság, a Magyar Biokémiai Egyesület, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Biológiai Társaság Membrán Szakosztályainak, illetve a membránok vizsgálatával foglalkozó kutatóinak közös rendezvényeként. Tekintettel arra, hogy az első konferenciát 10 évvel ezelőtt tartottuk, az ezévi megbeszélések egyuttal jó alkalmat szolgáltattak arra is, hogy a membrán transzport konferenciák eddigi eseményeit és tanulságait áttekintsük, valamint, hogy elemezzük a magyar membrán kutatások elmult 10 évének eredményeit összehasonlitva a nemzetközi szinvonallal. Megállapitottuk, hogy a magyar membrántranszport kutatások ma is állják a nemzetközi összehasonlitást. Több olyan igen figyelemre méltó nemzetközi eredmény született, amelyhez az alapokat - és az első közléseket - éppen magyar szerzők szolgáltatták. Sajnálatosnak kell azonban tartanunk, hogy ezen iniciáló munkák felszerelési, szervezési, stb.okok miatt végül is nem magyar kutatók eredményeit alapozták meg.

A konferenciák kezdeti periódusában a membránkutatás interdiszciplinális jellegéből kifolyólag a szakmai továbbképzés volt a fő cél, hogy a matematika, fizika, kémia, morfológia, biokémia, fiziológia, farmakológia, stb. oldaláról közelitő kutatók megértsék egymást. A továbbképzési jelleg mellett azután egyre inkább előtérbe került a saját kutatási eredmények bemutatása, összevetve az illető terület nemzetközi haladásával. A konferenciák szervezésére a folyamatos fejlesztés volt a jellemző. A nagy összefoglaló referátumok mellett minden alkalommal egy-egy nagyobb munkacsoport teljes, több éves tevékenységét bemutató előadásaira is sor került. Az utóbbi években a legfrisebb eredmények hatékony megvitatására poster szekciókat szerveztünk és a legjobb posterek bemutatóit a következő évben témájukból összefoglaló jellegü előadások tartására kértük fel. 10 év alatt 238 előadás hangzott el és 157 poster került bemutatásra. Az előadások legnagyobb része az MTA Biológiai Osztályközleményekben

bőséges irodalommal közlésre került. A konferenciák az elmondottakon túlmenően lehetővé tették, hogy egymás munkáját alaposan megismerve ne csak módszertani tapasztalataikat adják át egymásnak a résztvevők, hanem a különböző munkacsoportok közötti együttműködések is kialakuljanak. A konferenciák inspirálta együttműködések első eredményeit ma már közlemények formájában is olvashatjuk. /A magyar membrán-transzport kutatások 10 évének részletes elemzését szintén az MTA Biológiai Osztályközleményekben kívánjuk megjelentetni./

Az ezévi konferencia előadásaiból érdemes kiemelnünk "A sejtfelszini ligand kötőhelyek dinamikája" Damjanovich Sándor, "A plazma lipoproteinek és a sejtmembrán kölcsönhatásai" Szollár Lajos, "A citoszkeleton szerkezeti elemei és funkciója" Fóris Gabriella és Kövér András, "A chemotaxis biokémiája" Nagy Zsolt, Solymossy Magda és Antoni Ferenc, "A phagocyták chemotaxisának zavarai és ezek klinikai következményei" Szegedi Gyula, "Az endoplazmatikus retikulum fehérjetranszportja" Végh Miklós, illetve "Differenciál szkening kalorimetria /DSC/ és alkalmazása a membrán-kutatásban" Tölgyesi Ferenc előadásait.

A membrán kutatásnak a mezőgazdaságban betöltött jelentőségét példázta "A növényi membrán- és transzport kutatások: szerepük a növény ásványi táplálkozásában" c. előadássorozat, melyet Baranyai Ferenc és Fekete Attila : "A gyakorlati növénytermesztés igényei a tápanyagfelvételi kutatások felé"c. összefoglalója nyitott meg, majd Erdei László, Bérczi Alajos és Oláh Zoltán: "Az iontranszport regulációja a buza életciklusa alatt" Bujtás Klára és Csch Edit: "Cu hatása a buzagyökerek K^+-felvételi rendszerére", Zsoldos Ferenc és Bérczi Alajos: "Stressz-tényezők hatása termofil növények K^+-transzportjára és Vigh László: "Membránlipidek szerepe a növények fagytűrőképességének kialakitásában" c. előadásai hangzottak el.

A konferencia 3. napján került sor az SZBK Biokémiai Intézetének beszámolója "Membrán enzimek és receptorok" cimmel amikor Simon József és Nagy Ágnes: "Kétértékü kation függő adenozin trifoszfatáz enzimek szolubilizálása és gélelektroforetikus analizise" Kiss Zoltán: "Máj adenil cikláz aktivitás szabályozása", Szücs Mária: "Opiát receptorok jellemzése patkány agy membránfrakcióin", Wollemann Mária: "Deszenzitizálás és tulérzékenység

béta-adreneg receptorok esetében" és Maderspach Katalin: "Membrán-receptorok szerepe, fejlődése és szabályozása intakt idegrendszeri sejtekben" c. előadásai hangzottak el.

A mesterséges lipid membránokkal kapcsolatos kutatásokat Báthori György: "Liposzóma: előállitása, vizsgálata, felhasználása membrán-kutatásban és gyakorlatban", illetve Szebeni János: "A liposzómák viselkedése élő rendszerekben" c, előadásai képviselték.

Végül az utolsó napon hangzott el Róhlich Pál: "Membrán-körforgás és a burkos /coated/ vesiculák", illetve Lipcsey Attila: "A biológiai membránok jelentősége a psychiatriai therápiában" c. előadásai.

A két poster szekcióban ebben az évben 55 poster került bemutatásra. A posztereket értékelő Bizottság több szerzőt javasolt nagyobb előadás tartására a jövő évi konferencián. A konferenciát ebben az évben is a jó vitaszellem, egymás megbecsülése és segitése jellemezte. Érdemesnek tartom megemliteni, hogy az eddigi találkozókat szervező Bizottság 10 éves tevékenysége után ugy határozott, hogy helyét és szerepét fiatalabbaknak adja át. Az uj szervező bizottság titkos szavazással történő megválasztására a közeljövöben kerül sor. Az idei konferencia résztvevői azt is elhatarozták, hogy ezentul évközben is tartanak egy-egy rövidebb tudományos ülést a membrán-kutatás egy-egy speciális témájáról.

SOMOGYI János

XII. KEMOTERÁPIAI KONFERENCIA - Hajduszoboszló 1982 május 12-14

A konferencia szervezői a szokásos munkabeszámolókon tulmenően célul tüzték ki a hazai kemoterápiás kutatások jelenlegi állásának áttekintését is. „Az antibakteriális hatásu kemoterápeutikumok kutatása Magyarországon" és a „Lehetséges-e összehangolni a kemoterápia különböző területein folyó hazai kutatásokat ?" cimü kerekasztal megbeszélések elsősorban ezt a célt szolgálták.

A sejtosztódás szabályozásának és gátlásának jobb megértéséhez szükséges alapkutatások eredményeiről a Szegedi Biológiai Központ munkatársai számoltak be, különös tekintettel azok gyakorlati jelentőségére. Emlős sejtkulturák alkalmazásával sikerült ACTH, tubulin, α-foetoprotein, T-limfocita és vörösvérsejt antigénekkel szemben olyan monoklonális ellenanyagokat előállitaniuk, amelyek diagnosztikai jelentőségüek. - Dexametazon rezisztens hepatoma-sejtek tumorkeltő képességének egerekben való tanulmányozása alapján megállapitották, hogy a tumorogenitás és a rezisztencia elválaszthatók egymástól. Kidolgozták emlőssejtek olyan génmutációs tesztrendszerét, amely alkalmas biológiailag aktiv anyagok esetleges mutagén hatásának vizsgálatára.

A daganat-kemoterápia témakörében elhangzott előadások kiterjedtek a hatóanyag-tervezés, a hatástan és hatásmód kérdésein tul a farmakokinetikai és klinikai toxikológiai problémákra is és foglalkoztak a hazai daganatgátló gyógyszerek kutatásában alkalmazott irányelvekkel, módszertani problémákkal. A különféle szerkezetü és hatásmódu / nitrozourea-származékok, hexitek, alkilező vegyületek, növényi eredetü hatóanyagok, antimetabolitok /citosztatikumokkal végzett in vitro és in vivo vizsgálatokat bemutató előadásokat széleskörü vita követte. Az elhangzottak kedvező képet mutattak a kutatók szakmai felkészültségéről, a párbeszédek szenvedélyessége pedig azt a szándékot tükrözte, hogy az eddiginél gyorsabb előhaladásra van szükség a daganatellenes anyagok kutatásában. Ennek egyik fontos előfeltétele azonban az, hogy a kutatómunka a jövőben fokozott erkölcsi és anyagi támogatást kapjon. Ma ugyanis a hatásosnak talált vegyületek kifejlesztése vagy az ipari technológia bevezetésének szakaszában vagy a klinikai kipróbálás fázisában megreked,

és igy egy-egy uj hatóanyag gyógyszerré válása hazánkban lényegesen hosszabb ideig tart a nemzetközi átlagnál. A daganatkemoterápiás szerekkel való ellátás egészségügyi problémáinak mai helyzete világszerte arra figyelmeztet : az eddig megismert különféle vegyületektől eltérő tipusu és nem toxikus molekulák kutatására és olyan uj biokémiai-farmakológiai módszerek kidolgozására van szükség,amelyek lehetővé teszik a kisérletes és emberi daganatok kemoterápiai szempontból fontos tulajdonságainak felderitését.

Az immunologiai tárgyu előadások a legváltozatosabb kémiai szerkezetü vegyületeknek az immunrendszerre kifejtett hatásairól számoltak be in vitro és in vivo tesztrendszerekben végzett vizsgálatok alapján.

Az antivirális hatásu anyagokkal foglalkozó előadások egyrészt különböző nukleozid analogokkal, másrészt az interferonokkal végzett hazai kutatások jelenlegi állását ismertették. A hatás és szerkezet összefüggéseinek tanulmányozásán kivül gyakorlati eredményeket is értek már el a herpesek gyógykezelésében nukleozidszármazékkal. Az interferonok hazai előállitását célzó vizsgálatokkal összefüggésben részletesen tanulmányozták az interferonok antivirális, sejtproliferációt gátló és az immunfolyamatokat moduláló hatásait.

Az antibakteriális kemoterápia helyzetének elemzésekor kitünt, hogy az antibakteriális hatásu gyógyszerek évi forgalma igen tekintélyes összeget tesz ki világméretekben / 1980-ban pl. kb. 6.600 millió US dollárt ! / és emelkedő tendenciát mutat. Minthogy napjainkban már nem ismeretes olyan prokaryota kórokozó,amely ellen ne rendelkeznénk valamilyen klinikailag is hatásos gyógyszerrel,a jövő uj,antibakteriális hatásu gyógyszereinek speciális igényeket is ki kell elégiteniük. Ezek közül a legfontosabbak a következőkben foglalhatók össze :

Hatékonynak kell lennie az ismert készitményekre már rezisztens kórokozókra is. - Lehetőleg más támadásponttal,illetve más hatásmóddal kell rendelkeznie,mint a már használatban lévők. - A nagy mértékü és specifikus hatásossággal összefüggésben atoxikus legyen. Ez a feltétel - az elmult két évtized tapasztalatai alapján - elsőrendüen fontos Gram-negativ kórokozókkal fertőződött immundefektu-

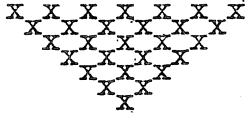
sos vagy immunhiányos betegek kezelésekor. Megkülönböztetett fontosságu továbbá a per os is hatásos vegyületek kifejlesztése,ez a gyógyszerforma ugyanis az egyszerü alkalmazhatósággal együtt rendszerint kevesebb mellékhatással is jár.

A hazai antibakteriális kemoterápiás kutatásokról elhangzott beszámolók tükrözték a fentiekben vázolt feladatok megoldására irányuló törekvéseket.

Uj antibiotikumok biológiai módszerekkel történő előállitása céljából tanulmányozzák a Streptomycesek protoplast-fuzióját. Uj hatóanyagok felismerésének reményében rendszeresen átvizsgálták hazánk növényvilágának egy részét. Több kutatóhelyen összehangoltan folyik β-laktamázgátlók előállitása és vizsgálata. E kutatások célja a bakteriális gyógyszerrezisztencia terápiásan egyik legfontosabb megnyilvánulása, a baktériumok β-laktamáz enzimtermelésének,illetve az enzim/ek/ müködésének megakadályozására alkalmas gyógyszer kifejlesztése.

A baktériumok plazmidok által kódolt és közvetitett rezisztenciájának tanulmányozása, a plazmidok izolálása, azonositása, jellemzése, a patogenitásban játszott szerepük fontosságának bizonyitása mutatja annak a törekvésnek a távlatait, amely már kezdeti sikereket könyvelhet el a plazmidos rezisztencia terjedésének gátlásában. A baktériumok ritkábban előforduló gyógyszerrezisztencia tipusának tanulmányozása alapkutatási szinten folyik. Ugyanilyen tanulmányok tárgya a gyakorlati szempontból fontos, terápiásan azonban nehezen kezelhető Streptococcus faecalis esetleg szelektiven támadható enzimei.

A Konferencia zökkenőmentes lebonyolitása a kellemes környezetben a Rendezőség önzetlen munkáját dicséri.



FIGYELŐ

MAGYAR NYELVŰ SZAKLAPJAINK +

Abból kell kiindulnunk, hogy hazánkban több mint negyedmilliós a természettudományos müszaki értelmiségiek száma, ebből közel negyvenezren vannak kutató-fejlesztői státuszon alkalmazva. A tudomány fejlődése elsősorban a kutatói státuszon lévőktől függ, noha a többiektől jövő visszacsatolásoknak sem lenne szabad elhanyagolhatóknak lenniök. A müszaki fejlődés azonban a teljes negyedmilliós réteg képzettségének, tájékozottságának, motiváltságának, szemléletének függvénye, s az innovációs folyamatok sikere vagy sikertelensége ezenkivül még a „human" /főleg a politikusok és közgazdászok/ természettudományos kulturájától is nagymértékben függ. A közel negyedmilliós nem kutatói-fejlesztői státuszon levő "reál" szakember szakmai tájékozottsága döntő mértékben a magyar,magyar nyelvü szakmai folyóiratok függvénye. Nemcsak a nyelvismeret hiánya miatt, hanem azért is,mert e hatalmas,de szétszórt szakembertömegnek a külföldi szakfolyóiratokkal való ellátása devizális okokból sem oldható meg,másrészt,mert a külföldi szakfolyóiratok a mi viszonyainkról, problémáinkról és eredményeinkről nem adnak tájékoztatást.

Amikor a tudományos-müszaki folyóiratok reviziója folyik, különösen hangsulyoznunk kell, hogy "reál" szakembereink tájékozottsága,szakmai szinvonala döntő mértékben a magyar nyelvü szakfolyóirataink nivójának, elérhetőségének,olvasottságának a függvénye. A nivónak olyannak kell lennie, hogy húzóerőt jelentsen a hazai szakemberek számára anélkül, hogy elriasztana vagy szégyentelenség-érzést keltene. De azért feltétlenül folyamatos tájékoztatást kell adnia a nemzetközi szakmai élet eseményeiről, a nemzetközi szinvonalról, a közeli és távoli lehetőségekről, a fejlődési irányokról. A MTESZ müszaki folyóiratai ezt a feladatot látják el jól-rosszul; a természettudományok vonatkozásában a hiányok nagyobbak, a biológiának például egyáltalán nincs ilyen folyóirata /csak elágközlő folyóiratai/,de a Kémikusok Lapjának 12oo-as példányszáma sem lehet elegendő a tiz-husszorennyi vegyész,vegyészmérnök, kémiatanár tájékoztatására.

+ Kiragadott gondolatok GÁNTI Tibor hozzászólásából. Magyar Tudomány XXVII.kötet 4.szám 311.o./1982/

HÍREK és ESEMÉNYEK

Egyesületünk SZTEROIDBIOKÉMIAI SZAKCSOPORTja a szteroid-receptor kutatás eredményei iránt érdeklődők számára egésznapos találkozót kiván szervezni november 12-én Budapesten, a MTESZ székházban.

Szakcsoportunk tagjai / azok,akik kitöltött adatlapjukat Egyesületünk címére visszaküldték / az ülés részletes programját tartalmazó meghivót kapnak majd erről a rendezvényről. Ezuton hivjuk fel a tématerület iránt érdeklődő többi tagtársunk figyelmét is a találkozóra. Kérjük, hogy részvételi szándékukat mielőbb jelentsék be,igy a programot számukra is időben meg tudjuk küldeni.

SZENTIRMAY Attila
szakcsoporttitkár

+

Hazánk felszabadulásának 37.évfordulója alkalmából Méhes Lajos ipari miniszter Eötvös Lóránd dijat adományozott Egyesületünk elnökségi tagjának,

Dr.UDVARDY NAGY ISTVÁNNÉnak, a Kőbányai Gyógyszerárugyár laboratoriumvezetőjének, az iparban kifejtett kiemelkedő irányitó és szervező tevékenysége elismeréséül.

+

A F E H É R J E /enzimek/ Szakosztály ezév őszén "Enzimek szerkezete és müködése" cimmel munkaértekezletet tervez.

+