

BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület
tájékoztatója

Quarterly Review of the
Hungarian Biochemical Society

Szerkesztő bizottság : Alkonyi István, Bagdy Dániel, Falus András
Gaál József, Gergely Pál, Huszti Zsuzsa,
Solymosy Ferenc és Szász Ilma

Felelős szerkesztő : Bagdy Dániel

Technikai szerkesztő : Bagdy Erzsébet és Jurácsik János

A tartalomból :

Az in vivo véralvadásgátlás stratégiája kis molekulásúlyú
szintetikus inhibitorokkal

A Drosophila tanulmányának molekuláris mechanizmusáról

Oligovanadát anionok kölcsönhatása a szarkoplazmatikus retikulum
 Ca^{2+} -ATPázsal

A pankreász és leukocita kimotripszin szubsztrátspecifitásának
vizsgálata szintetikus szubsztrátokkal

In memoriam Farkas Gábor

Így szerkesztetek ti...

A klinikai biokémia oktatási problémái

Hírek és események - 10 éves a TIBS

+

Contents

Strategy for in vivo inhibition by synthetic thrombin inhibitors
of blood clotting

Molecular mechanism of learning in Drosophila

Interaction of oligovanadate anions with the Ca^{2+} -ATPase in
sarcoplasmic reticulum

Investigations on the substrate specificity of pancreatic and
PMN leukocyte chymotrypsin with synthetic substrate

In memoriam Prof G.Farkas

News and events - 10 years of TIBS

E számunk szerzői :

Csermely Péter SOTE I.Kémiai-Biokémiai Intézete

Dévay Piroska MTA SzBK Enzimológiai Intézete

Sarkadi Balázs Orsz.Haematológiai és Vértranszfúziós Intézet

Solymosy Ferenc MTA SzBK Növényélettani Intézet

Tózsér József DOTE Biokémiai Intézete

Bagdy Dániel Gyógyszerkutató Intézet Kv.

Kovács Gábor Chinpin

Az in vivo véralvadásgátlás stratégiája kis molekulású inhibitorokkal

„Nem szabad azonban elfelejtenünk, hogy az in vitro kísérletek mellett vissza kell térnünk arra a kérdésre, hogyan működnek az enzimek a sejten belül. Amit in vitro látunk, azt nem lehet minden további nélkül az élő sejtbe bemagyarázni.”

Straub F.B.: Biokémia. Medicina, 1965.

A tankönyvi idézet tapasztalataim szerint a testfolyadékok zimo-
génjeire és az enzim-inhibitorokra is áll. Az enzimgátlás elméleti kérdései sok tekintetben tisztázottak. Gyakorlati vonatkozásaik sokkal kevésbé.

„Proteinase inhibitors as potential drugs?” - ez a kérdés nem véletlenül címe az enzimgátlókra mint gyógyszerekre vonatkozó tanulmányokat összefoglaló kismonográfia egyik fejezetének. /14/ Szerzője válaszában lényege : nagyon kevés ilyen gyógyszer van, ha van egyáltalán kétségtelenül bizonyított hatású. Nem vitatható viszont az endopeptidázoknak az élő szervezetben betöltött sokoldalú szerepe. S az is általános nézet, hogy az újabb alapkutatói eredmények ismeretében enzim-inhibitorok gyógyszerre való fejlesztésére új lehetőségek nyíltak meg.

A trombózis biológiájáról megjelent egyik áttekintő tanulmány /35/ a vérrögképződés in vivo történéseit három fő lépésben foglalja össze : az érfal belső sejtrétege helyi hiányának kialakulása (lokális endotél-denuváció), - a vérlemezkék letapadása az endotél-hiányos helyen, - trombin keletkezése a vérlemezkék felületén. Az érfalon és a lemezke-membránon lejátszódó kezdeti lépésekben az arachidonsav-anyagcsereútak enzimeit, ezt követően az alvadás szerinproteázai, majd a trombin keletkezésének pillanatától a trombin felelős a molekuláris eseményekért /38/. Teljes az egyetértés abban, hogy a vérrögképződés folyamatának in vivo tanulmányozása rendkívül bonyolult és nehéz feladat, s nincs igazán jó állatkísérletes modell az in vitro és ex vivo enzimgátlási kísérletekben kapott eredmények in vivo ellenőrzésére. A folyamat(ok) gátlását igen különböző elképzelések alapján igyekeztek megvalósítani. Általánosan elfogadott és elméletileg megalapozott az a nézet, hogy specifikus enzimekkel szabályozott multienzim-rendszerek gátlása csak specifikus enzim-inhibitorokkal valósítható meg optimálisan.

A véralvadási tényezők elsődleges szerkezetére és kölcsönhatásaikra vonatkozó mai ismereteink alapján /22/ a véralvadási láncreakció minden egyes lépése és elvileg minden egyes tényezője gátlható és az in vitro gátláshoz egészen különböző szerkezetű szintetikus vegyületek felhasználhatók és alkalmasnak bizonyulhatnak.

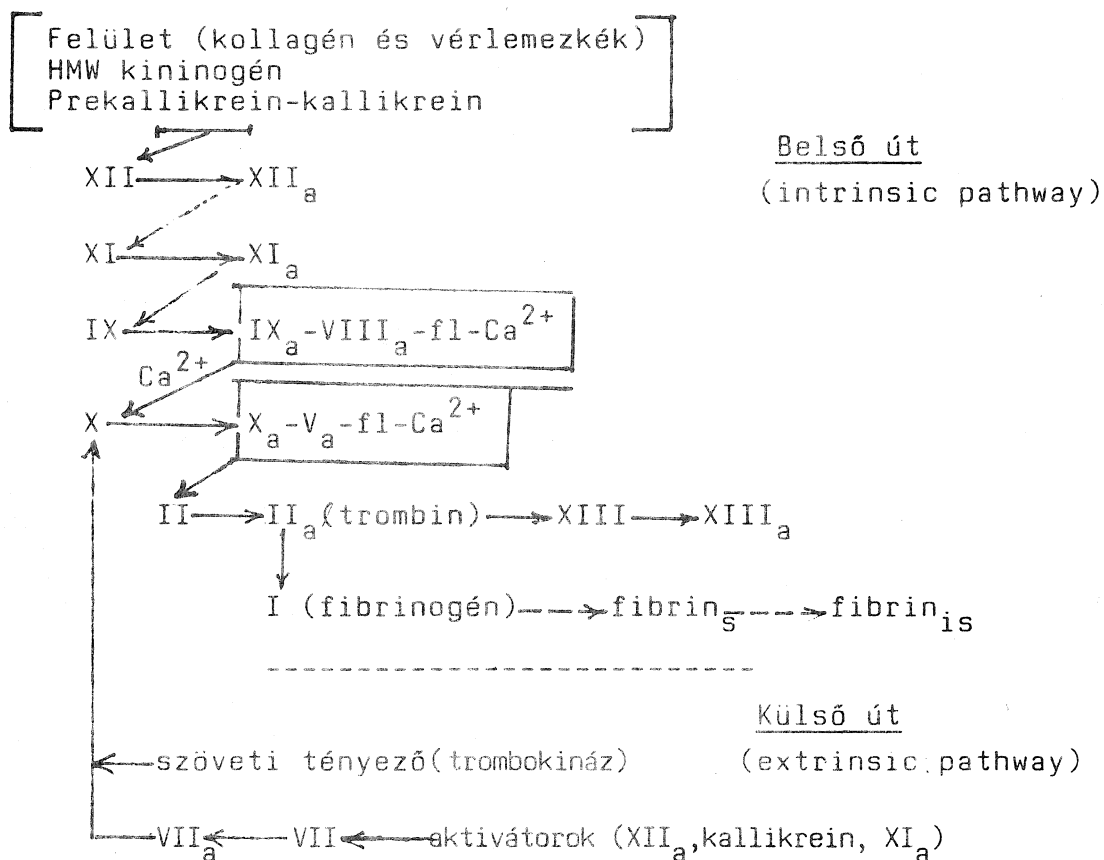
A véralvadás gátlásának főbb támadáspontjai

Kis molekulású, szintetikus alvadásgátlók tervezésének kémiai szempontjai közül nyilvánvalóan megkülönböztetett jelentőségű a kaszád-reakció első lépésének, az ún. kontakt fázis ténye-

zõinek, a XII_a és a XI_a gátlása. Ugyanis a láncreakció során be-
következő felerősítés miatt /18/ ésszerű az indító reakcióban részt
vevő tényező/k/ inhibitorainak alkalmazása. Ezeknek a tényezőknek az
élettani gátló anyaga - hasonlóan a többi alvadási szerinproteináz-
hoz - az antitrombin III. Szintetikus irreverzibilis inhibitoraik
szintén ismertek (DFP, PMSF, stb.), reverzibilis gátló anyaguk viszont
nem. Ha a jövőben sikerülne is ilyen inhibitor/ok/ szintézise, in
vivo hatásuk kérdéses volna. Ugyanis a kontakt fázis aktiválásában
ismertté vált a prekallikrein-kallikrein-HMW kininogén és a XII
tényező kölcsönhatása, a HMW kininogénnek a kontakt fázist serkentő
szerepe /17/.

1. ábra

A véralvadási láncreakció egyszerűsített vázlatja



Az index _a az aktivált véralvadási tényezőket jelenti; fl = fosfolipid; fibrin_s = ureában oldódó, fibrin_{is} = ureában oldhatatlan fibrin

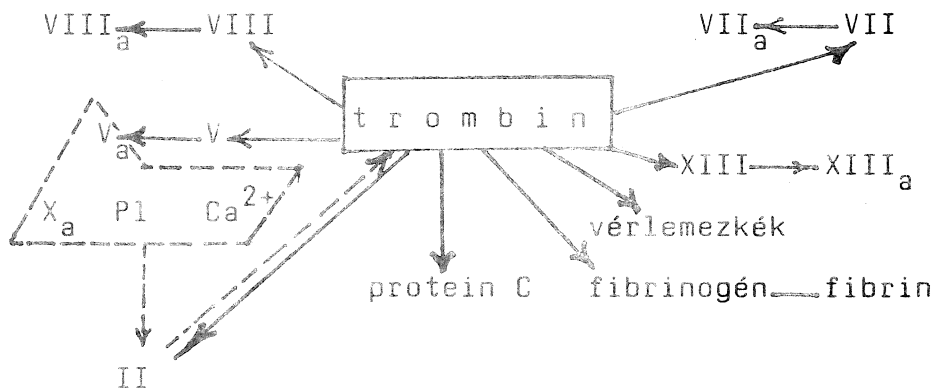
A véralvadási folyamat befejező lépésének, a fibrin monomér po-
limerizációjának gátlása gyakorlati nézőpontból is fontos támadás-
pont. Ugyanis ismert, hogy a keresztkötéseket nem tartalmazó fibrin-
polimer oldása a plazmin számára lényegesen megkönnyített. Lóránd

és munkatársai úttörő munkássága nyomán vált ismertté, hogy glicin-származékok, valamint a tozil- és danzilkadaverin gerincesekben specifikusan gátolják a fibrin élettani polimerizációját anélkül, hogy befolyásolnák a fibrin-monomér képződését. Ezek a vegyületek in vitro - a plazminogén-aktivátorok útján - bizonyítottan megkönnyítik a véralvadék oldását. Gyógyászati alkalmazásukra mégsem kerülhetett sor, mert az in vivo hatásukhoz szükséges vérszint nem volt megvalósítható /27/.

A X faktor aktivált alakját szelektíven gátló vegyületek tervezésének az a kiinduló pontja, hogy ez a tényező a belső és külső út találkozási pontjában foglal helyet, így optimális támadáspontul szolgálhat és in vivo is sikeres utat jelenthet új típusú antikoaguláns kifejlesztésében /41/. Előállítottak olyan vegyületet, amelynek a X_a -ra vonatkoztatott - amidáz-aktivitás méréssel meghatározott - gátlási állandója felülmúlta a trombinra vonatkoztatottat. Az 1,2-di(5-amidino-2-benzofuranil)etánt /DABE/ egyetlen alvadási paraméter mérése alapján egy in vivo kísérletben is hatásosnak találták. /21/ A X_a gátlására vonatkozó közlések tárgyilagos megítélésekor nem hagyható azonban figyelmen kívül az, hogy bármely támadáspont előnyösebb voltának bizonyítására elégtelen a kísérletek néhány vegyületre és egyetlen funkcionális parameterre való leszűkítése /44/. Saját, nem közölt kísérleteink szerint a X_a hozzáférhetősége a komplexben peptid-inhibitorok számára erősen kérdéses. Ezen túlmenően minden szintetikus alvadástgátló vegyület in vivo alkalmazhatóságának alapvető problémája az, hogy szerkezetileg jól összefér-e a teljes vérrel, amelyben hatnia kell.

A véralvadásnak az evolúció során kialakult gátló anyagai áttekintésekor figyelemreméltó tény az, hogy a vérszívók egyik tipikus képviselője, a pióca véralvadást gátló anyagának, a hiru-dinnak, nem a X_a , hanem a trombin és a IX_a a támadáspontja. Egy másik biológiai^a tény az, hogy a magasabb^a rendűek vérplazmájának proteináz-inhibitorai közül az antitrombin III az alvadási kaszkád minden szerinproteinázát gátolja. Egy harmadik, figyelmet érdemlő tény: a véralvadási multienzim-rendszer más multienzim-rendszerekkel (kinin-, komplement- és fibrinolitikus rendszer) éppen az indító reakciójában (kontakt fázis) függ össze. Így a kémiai szemszögből legésszerűbbnek látszó első lépcsős támadáspont biológiai szempontból aligha tekinthető legkedvezőbbnek. Ugyanis a kontakt fázisban történő gátlás nagy valószínűséggel a fenti multienzim-rendszerek valamelyikére is kihatna, s ezek egyidejű befolyásolására bizonyosan nincs szükség.

Kémiai és biológiai szempontból egyaránt fontos támadáspont a trombin. Hatásos inhibitorainak tervezését elsődleges szerkezeté-

2. ábra A trombin kapcsolatai a véralvadási tényezőkkel

nek felderítése és a fibrinogénnel való reakciójának megismerése tette lehetővé. Ennek a támadáspontnak a különleges jelentőségét az adja meg, hogy a trombin képződése a vérlemezkék felületén folyik le és így a véralvadék (vérrög) stabilizálásában és növekedésében döntő tényező /37/. Központi helyzetét és jelentőségét az újabb kutatási eredmények megerősítették /lásd a fenti ábrát/. Mai tudásunk szerint a trombin a fibrinogén specifikus hasításán túlmenően aktiválja az V, VII, VIII és XIII faktort, a protein C-t és a vérlemezkéknek legerősebb élettani aktivátora. Mindezek mellett saját képződését is szabályozza negatív visszacsatolás útján. Ebből következik, hogy egy - komplex biológiai rendszerekben is hatásos - trombin-inhibitor az enzimnek fenti kölcsönhatásait is gátolja. A trombin specifikus gátlása éppen ezek révén jelenthet in vivo lényegesen többet, mint bármely másik alvadási faktor egyedi, specifikus gátlása.

Trombin-inhibitorok hatékonyságának jellemzése

Az alvadási enzimek szintetikus inhibitorainak biokémiai-farmakológiai jellemzésére vonatkozó módszerek Markwardt /33/ szerint in vitro és in vivo csoportra oszthatók. Első lépésben izolált in vitro reakcióelegyekben természetes és/vagy szintetikus szubsztrátokon történik az inhibitor molekula hatásának mérése. Ezek a vizsgálatok tájékoztatnak az inhibitor kémiai értelemben vett specifitásáról, a gátlás jellegéről és típusáról. Ezen túlmenően bepillantást engednek az inhibitor-molekulák szerkezet-hatás összefüggéseibe, lehetővé teszik az inhibitor legjobb szerkezetének kialakítását és szintézisét. Nem kétséges, hogy mindezek nélkülözhetet-

len kiinduló pontjai az inhibitor-kutatásnak. A kutatók túlnyomó nagy többsége azonban figyelmen kívül hagyja azt, hogy az in vitro reakcióelegyek ideális, biológiai szempontból nem ritkán erősen extrapolált kísérleti feltételeket képviselnek, így információs érvényességük, értékük korlátozott. Nem terjeszthető ki a teljes vérré, amelyben a trombin-inhibitoroknak ki kell fejteniük hatásukat. Ezért ésszerű és szükséges is -véleményem szerint - az in vitro legjobbnak mutatózó inhibitor molekulák beható ex vivo tanulmányozása is in vivo vizsgálatuk előtt: olyan komplex alvadási rendszerekben, amelyek sokoldalú felvilágosítást nyújtanak az inhibitoroknak a vér sejtjes elemeivel, valamint a plazmafehérjékkel való kölcsönhatásaira és lehetővé teszik összeférhetőségének /kompatibilitásának/ megítélését. Csak ezekből derülhet fény arra, hogy az in vitro mért gátló hatás érvényre jut-e majd in vivo is, és ha igen, a K_i értéke szerint várhatóan vagy annál lényegesen, akár több nagyságrenddel gyengébben. Ha az utóbbi eset áll fenn, amire számos példa van a szintetikus trombin-inhibitorok között, ez arra utal, hogy a célenzimen kívül más makromolekulákkal is kölcsönhatásba lép az inhibitor s ezek lerontják hatását. Az inhibitor molekula dózis-hatás összefüggésének ex vivo komplex alvadási rendszerekben való vizsgálata és következetes összevetése az in vitro izolált tesztekben kapottakkal (különösen akkor, ha az utóbbi mérések kizárólag szintetikus szubsztrátokon történtek) valós előrejelzést nyújt az inhibitor várható in vivo hatékonyságára /5/.

Reverzibilis inhibitorok esetében a természetes szubsztrátra vonatkoztatott gátlási állandó és a gátlás típusa általában elegendő az inhibitor hatékonyságának a megítélésére. A nagyon gyakran használt IC_{50} érték, azaz az 50 %-os gátláshoz tartozó enzimm koncentráció csak viszonylagos érték, hiszen mind a szubsztrát koncentrációtól, mind a gátlás típusától függ /42/. A gátlás %-ban való megadása egyetlen szubsztrát-koncentrációra vonatkoztatva, amivel szintén nagyon gyakran találkozunk a szakirodalomban, szintén nagyon kevésbé hasznos adat és bizonyos esetekben félrevezető is lehet. Az IC_{50} értéket vagy negatív logaritmusát (pI_{50}) irreverzibilis inhibitorok jellemzésére is gyakran használják. Itt sem tekinthető abszolút értéknek, minthogy változik az enzimm koncentrációval /43/.

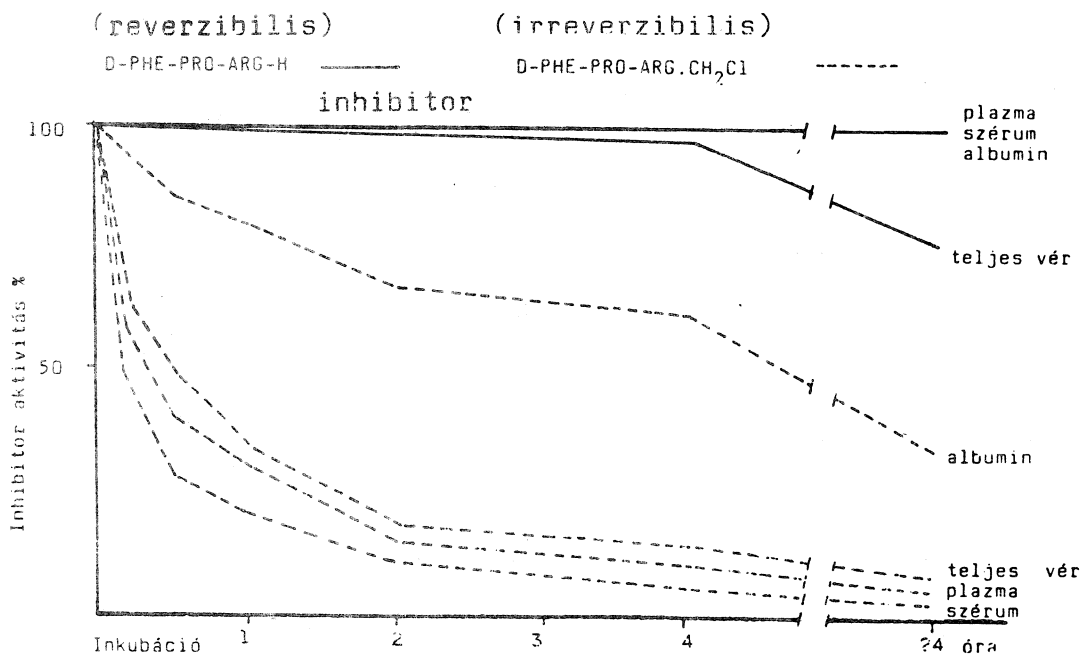
Szintetikus trombin-inhibitorok várható alvadástgátló hatása csak sokrétű és nagyszámú in vitro és ex vivo gátlási kísérlet alapján ítélni meg tárgyilagosan. Egyet érthetünk Verstraete és Verwilghen ajánlásával /45/, amely szerint legalább négy teszt szükséges egy trombin-inhibitor feltételezett antikoaguláns hatá-

sa megítéléséhez. A specifikus gátló hatás kísérletes bizonyítása és jellemzése mellett alapvetően fontos az inhibitor-vér egyéb kölcsönhatásainak felderítése, ill. kizárása, nemkülönben az inhibitor-molekula haemodinamiás parameterekre (vérnyomás, pulzus, EKG) kifejtett hatásának ellenőrzése.

Irreverzibilis trombin-inhibitorok

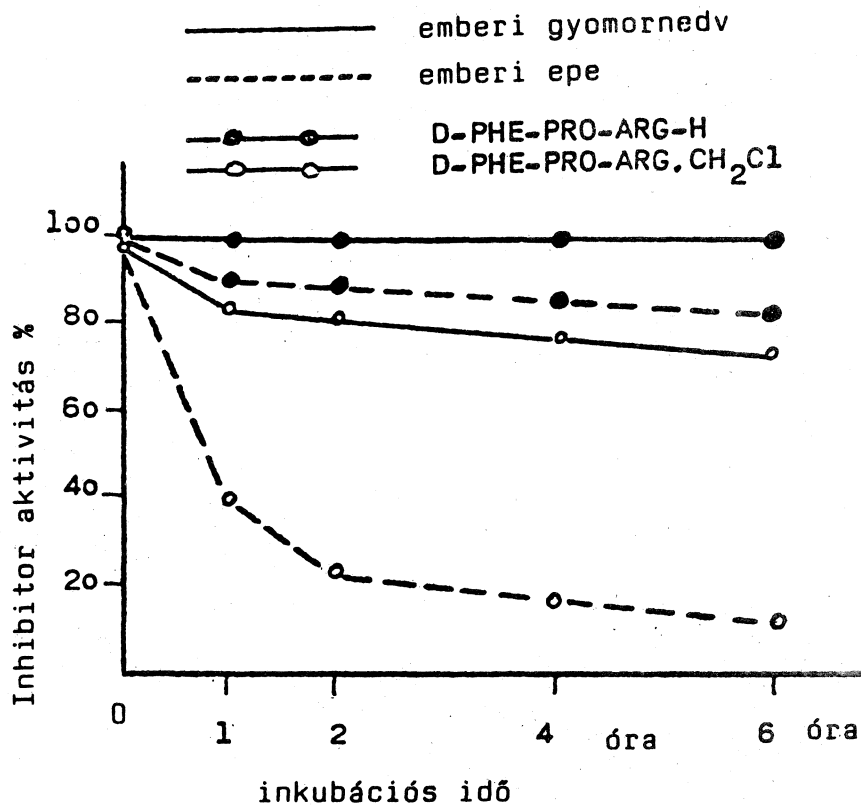
Az aktív helyen ható öngyilkos trombin-inhibitoroknak nagy száma ismert /13,34/. Elméleti jelentőségükhöz nem fér kétség. Ezzel szemben gyakorlati jelentőségük elhanyagolható, egyrészt azért, mert az enzim inaktiválásának sebessége rendkívül kicsi s így az inhibitor nem képes megelőzni az alvadási enzimek hatását, másrészt pedig azért, mert az irreverzibilis trombingátlók általában toxikusnak bizonyultak. Az irreverzibilis inhibitor cél-enzim specificitása csak egyik összetevője a molekula toxicitásának. Ugyanis az ilyen vegyületeknek rendszerint alkilező vagy acilező hatásuk is van - s ennek következtében in vivo a sejtekkel, ezek számos amino- és tiol-csoportot tartalmazó vegyületével reakcióba lépnek. Ez a jelenség ex vivo, testfolyadékokban és szövethomogenizátumokban jól tanulmányozható. Ezt szemlélteti saját kísérleteink alapján a 3. ábra

Irreverzibilis és reverzibilis trombin-inhibitor teljes vérben és vér-alkatrészekben



Az inhibitor-aktivitást standardizált kísérleti feltételek között műszeresen /Schnitger-Gross Coagulometer/ trombin-idővel mértük - fibrinogéne. Ugyanilyen kísérleti feltételek között vizsgáltuk a peptid-aldehyd és a megfelelő peptid-klórmetilketon inhibitor-aktivitását emberi gyomornedvben és epében (lásd a 4.ábrát).

4. ábra



Saját kísérleteink egyértelműen megerősítik Smith álláspontját /40/, aki szerint irreverzibilis inhibitorokat csupán a célenzim iránti in vitro bizonyított specificitásuk alapján nem megalapozott hatásos gyógyszereknek tekinteni. In vivo ugyanis az enzim reszintetizálódik s emellett nagyszámú, nem a célenzim felületén lévő funkcionális

csoporttal is stabilis kovalens kötést képez. Mindezek nemcsak lerontják a specifikus biológiai hatást, hanem egyidejűleg nemkívánatos (toxikus) mellékhatásokat is okoznak. Ebben a vonatkozásban Smith elsősorban a szervezetben mindenütt jelenlévő glutation (GSH) jelentőségét emeli ki. Egyetértünk vele abban, hogy pl. sem a TPCK, sem a TLCK nem lehet klinikailag hasznos gyógyszer a GSH mennyiségének erőszakos lecsökkentése és a következményes toxikus tünetek miatt. És mivel a GSH-val való reakció a molekula egyéb szerkezeti jellemzőitől független, minden más klórmetilketon-csoportot tartalmazó irreverzibilis inhibitor hasonlóan viselkedik.

Reverzibilis trombin-inhibitorok

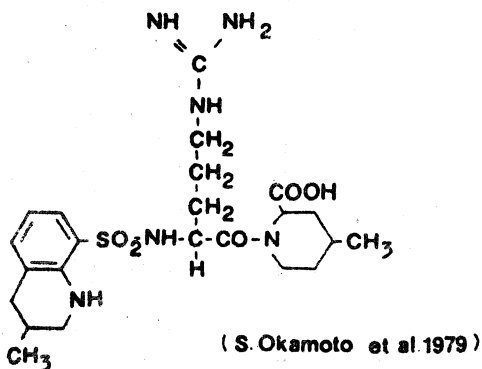
Lórándnak és munkatársainak az arginilpeptidekre és az agmatin-származékokra vonatkozó úttörő munkái nyomán /25,26,27/ nagy-

számú, in vitro hatásos trombingátló vegyületet szintetizáltak /20,30/. A szerkezet-hatás összefüggés vizsgálatokor kitűnt, hogy az inhibitor molekulának kationos csoport(ok)tal és az enzim aktív centrumával hidrofób kölcsönhatást létesítő résszel kell rendelkeznie. Azt találták, hogy a reverzibilis, kompetitív inhibitorok között az arginin N_{alfa} -helyettesített amidjai és benzamidin-származékok a leghatékonyabbak in vitro. /31,32/ Sok száz molekula vizsgálata során kvantitatív szerkezet-hatás összefüggéseket /QSAR/ állapítottak meg bis-benzamidinek és más helyettesített, több kationos csoportot tartalmazó vegyület-sorozat vonatkozásában. A legjobbnak talált inhibitorok ex vivo és in vivo hatásaira vonatkozó közlések azonban nagyon szegényesek. Az a tény azonban, hogy a kationos jellegű inhibitorok egyik csoportja a vörösvérsejtek membránjával reakcióba lépve hemolízist okoz, másik csoportja viszont jelentős vérnyomásesést, egyáltalában nem kedvező gyógyszerré fejlesztésük szempontjából. E kutatási irány legújabb, kevésbé toxikus inhibitorai sem hoztak lényeges haladást.

Szintetikus trombin-inhibitoroknak új típusait állították elő Okamoto és munkatársai /36/. Az N_{alfa} naftalinszulfonil-L-arginin-származékok, az N_{alfa} arilszulfonil-arginin-észterek és az N_{alfa} -helyettesített-L-arginin-

No.805

5. ábra



amidok hatásmódjának lényege az, hogy szerkezetükben utánozzák a természetes szubsztrát érzékeny részének fizikai-kémiai sajátosságait (tripod type inhibitors - guanidino-pod, aromatic and hydrophobic pods). Az eddigi legaktívabb képviselőjüknek talált No.805 jelű vegyület /25/ in vivo hatékonyságára

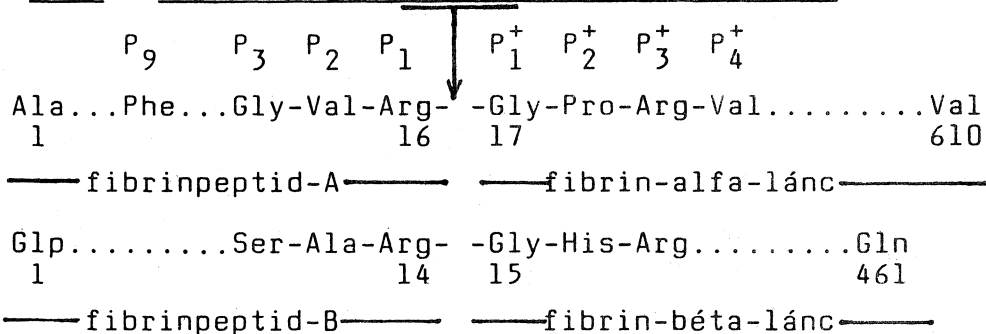
és terápiás indexére vonatkozó adatokat még nem közöltek.

A trombin peptid-inhibitorai

A fibrinogénról trombin hatására lehasadó A és B peptidnek a reakciót gátló tulajdonságát korán felismerték s azt is, hogy ezeknek önmagukban nincs gyakorlati jelentősége. A fibrinogén és trombin szerkezetének és kölcsönhatásuk molekuláris mechanizmusának

felderítése /15,29/ új lehetőségeket tárt fel szintetikus peptid-inhibitorok tervezésére. Blombäck és munkatársai /16/ a Phe-Val-Arg-OMe in vitro jelentős alvadástgátló hatását írták le, amit tripeptidil-trombin komplex-képződéssel magyaráztak. In vivo azonban csak néhány percig tartott ennek a tripeptidnek a hatása és egyidejűleg még vérnyomáscsökkenést is okozott. Ezek a kedvezőtlen tapasztalatok indították arra a svéd kutatókat, hogy peptid-inhibitorok helyett peptid-szubsztrátokat fejlesszenek ki a hetvenes években. A trombin peptid-inhibitorainak vizsgálata során Dorman /19/ hívta fel a figyelmet arra, hogy a fibrinogén molekula A láncának a trombin hasítási helyét megelőző és az azt követő tripeptid közül az utóbbi, a Gly-Pro-Arg erősebben gátolja a trombint, mint a Gly-Val-Arg. Mindezek a kutatások azonban nem jutottak el a gátlás gyakorlati vonatkozású problémáinak a felvetéséig sem. Ugyanígy nincs gyakorlati jelentősége a fibrinogénhez kapcsolódó, a fibrin polimerizációját gátló újabb szintetikus peptideknek sem (A.P.Laudano és R.F.Doolittle, Biochemistry 19, 1013-1019, 1980).

6. ábra A fibrinogén trombin-érzékeny kötése



Peptidaldehidek mint proteínáz-inhibitorok

Különböző *Streptomyces* fajtákból izolált proteínáz-inhibitorok szerkezetvizsgálatakor kiderült, hogy oligopeptid-aldehidek és inhibitor tulajdonságuk döntően aldehid-csoportjuk függvénye /45/. A leupeptinek versengő módon gátolják a tripszin, plazmin és a papain proteolitikus hatását. Igen nagy töménységben (10-400 µg/ml) késleltették az emberi és nyúlvér alvadását és gátolták a kinin- és fibrinolitikus rendszert is.

Specifikus trombin-inhibitorok tervezésekor Bajusz és munkatársai /8,9/ oligopeptidaldehideket szintetizáltak a fibrinogén és trombin elsődleges szerkezetének és kölcsönhatásuk molekuláris mechaniz-

musának ismeretében. Már kutatásaink kezdetén kiderült, hogy a di- és tetrapeptidek, valamint származékaik teljesen hatástalanok. A tripeptidaldehidek in vitro és ex vivo részletes vizsgálata azt bizonyította, hogy a Gly-Pro-Arg-H nagyságrenddel jobb inhibitor, mint a Gly-Val-Arg-H és ugyanilyen mértékben találtuk erősebbnek a Phe-Pro-Arg-H peptidet a Phe-Val-Arg-H peptidnél. Ez összhangban állt azzal a korábbi észlelésünkkel, hogy a trombin hatására keletkező monomér polimerizációjában és a fibrinogén Bβ-láncának hasadásában fontos szerepet játszik az alfa-lánc N-terminális Gly-Pro-Arg része /8,9/. Erre utal az is, hogy az ún. Detroit-fibrinogénben, amely Gly-Pro-Ser szekvenciát tartalmaz, a fibrinpeptid-A lehasadása után nem következik be polimerizáció és gátolt a fibrinpeptid-B felszabadulása. /11/ A peptidaldehidek enzimgátló hatását úgy értelmezik, hogy az észter- és amid-szubsztrátokhoz hasonlóan ezeket is aminosav-oldalláncaik irányítják az enzim aktív centrumába, ahol hemiacetált képeznek. Ez az enzim-szubsztrát kölcsönhatáskor keletkező ún. tetrahedrális intermedier nem produktív analógja. Az evolúciós tényekre és molekuláris mechanizmusok ismeretére épülő elméleti megfontolásokból kiindulva biokémiai és farmakológiai tesztek alkalmazása révén alig 20 oligopeptid-aldehid szintézisére volt csupán szükség az optimális vegyület előállításához. A D-Phe-Pro-Arg-H (GYKI 14 166) hatásmechanizmusára vonatkozó eredményeinket Bajusz közölte /10/.

Ennek lényege az, hogy a trombin fel tudja ismerni és meg tudja kötni az inhibitor C-terminális arginin oldalláncát és a középhelyzetű prolin maradékot. Az így keletkező komplexben a peptid aldehid-funkciója reagál az enzim aktív hidroxil-csoportjával és - nem produktív átmeneti állapot-analógot képez. Az így kialakult enzim-aldehid komplex stabilitását növelheti az N-terminális D-Phe útján közvetített további kölcsönhatás. Az enzim-inhibitor komplex képződésében szerepet játszó minden kölcsönhatás reverzibilis, az oldalláncok közti ionos és hidrofób kölcsönhatások éppen úgy, mint az aldehid funkció reakciója a hidroxil csoporttal. Ennek biológiai jelentősége nyilvánvaló.

Tény, hogy Kettner és Shaw /24/ a mi peptid-szekvenciánk klórmetilketon származékában közölte a trombin leghatásosabb in vitro inhibitorát. Vegyületük in vivo, terápiás alkalmazhatósága azonban nemcsak szerintünk kétséges. Az erfurti iskola szerint a D-Phe-Pro-Arg.CH₂Cl a vérben és a szervekben enzimatisz uton inaktiválódik. Saját vizsgálataink szerint a normál és hődenaturált emberi szérum inhibitor-inaktiváló képessége között nincs lényeges különbség. /22,4/

A D-Phe-Pro-Arg-H.H₂SO₄ biokémiai-farmakológiai jellemzése

Az in vitro tanulmányozott kétezernél is több szintetikus trombin-inhibitor közül elenyészően kevés molekula ex vivo és in vivo hatását írták le. E közléseknek is közös hiányossága az, hogy rendszerint 1-2 önkényesen megválasztott parameterre korlátozódnak, eltekintenek a hatás in vivo kinetikájának elemzésétől és az új molekula antikoaguláns hatását nem hasonlítják össze a ma használatban lévőkkel (nem használnak referencia-vegyületet).

Az ex vivo és in vivo hatások részletes elemzése alapján a tripeptid aldehidek, köztük a leghatásosabbnak talált D-Phe-Pro-Arg.H biokémiai farmakológiájára vonatkozó ismereteinket a következőkben foglalhatjuk össze /1,2,3,4,5,6,7/.

- Ex vivo alvadási rendszerekben kifejtett gátló hatása vetekszik a trombózis terápiájában évtizedek óta alkalmazott heparinéval. Antikoaguláns hatását azonban - ellentétben a heparinnal - AT III hiányos vérben is kifejti.

A D-Phe-Pro-Arg-H és a heparin ex vivo antikoaguláns hatása

Alvadási paraméterek	Az alvadási idők megkétszereződéséhez szükséges anyagmennyiségek ug-ban	
	D-Phe-Pro-Arg-H	Heparin Richter G ^o
A teljes vér alvadási ideje	0.085	0.34
Rekalcinálási idő	0.200	0.200
Aktivált parciális trombo- plasztin idő	0.120	0.380
Egyszakaszos protrombin idő	0.300	1.400
Trombin idő (teljes vérben)	0.032	0.028

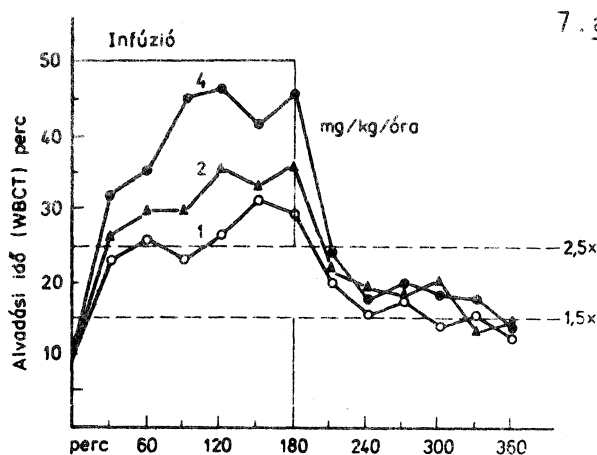
A műszeres mérések Thrombelastographban (Hellige, Model D) és Coagulometerben (Schnitger-Gross, Typ 410 A4 MD) történtek. A heparin-készítmény hatóértéke 142 NE/mg volt.

- A peptid aldehid ex vivo is jól tanulmányozható hatásai közül megkülönböztetett jelentőségű az, hogy specifikusan gátolja a vérlemezéknek trombinnal kiváltott, élettani aggregációját - anélkül, hogy reakcióba lépne a lemezke-membránnal (az enzim-inhibitor komplex nem tud megkötődni a membránon). A szintetikus trombin-inhibitorok túlnyomó nagy többsége károsítja a lemezkéket - éppen a közvetlen membrán-kapcsolata révén. A heparinok szintén kedvezőtlen hatásúak ebből a szempontból.

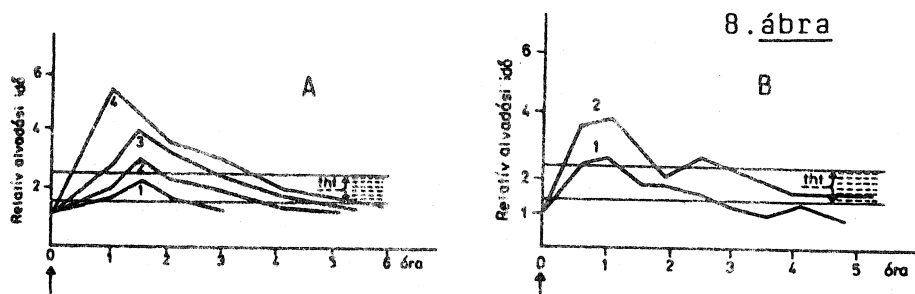
A vérlemezke-aggregáció gátlása D-Phe-Pro-Arg-H-val

Indukáló vegyület	A teljes gátláshoz (100%) szükséges inhibitor mennyiség (g/ml/ emberi PRP-n)
t r o m b i n	5×10^{-9}
ADP	4×10^{-2}
kollagén	3×10^{-2}

- A D-Phe-Pro-Arg-H in vivo bármely adásmódra kifejti antikoaguláns és lemezkefunkciót gátló (antiplatelet) hatását - szemben a heparinokkal és az orális antikoagulánsokkal. Hatása egyértelműen dóziszfüggő. Megkülönböztetett jelentőségű az a tulajdonsága, hogy szájon át adva 60-90 percen belül kifejti hatását - szemben a mai orális antikoagulánsokkal, amelyek csak 24-36 óra elteltével hatnak. Ezt mutatja a 7. és 8. ábra (Dózisonként 5-5 állat)



Altatott kutyák teljes véralvadási idejének változása a D-Phe-Pro-Arg-H iv. infúziójára. Az oszlopok sorrendben az 1.0, 2.0 és 4.0 mg/kg/h dózisra bekövetkező változásokat ábrázolják.

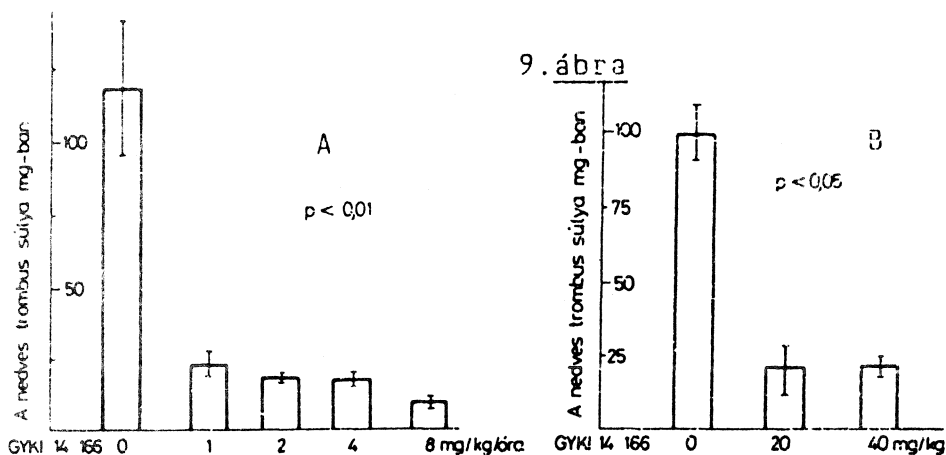


A A D-Phe-Pro-Arg-H egyszeri orális dózisainak hatása beagle kutyák teljes vérének alvadási idejére. A dózisok: 1-6.25 mg/kg, 2-12.5 mg/kg, 3-25 mg/kg, 4-50 mg/kg *tht* - a terápiás antikoaguláns hatás tartománya

B A D-Phe-Pro-Arg-H intraduodenális bevitelének hatása beagle kutyák teljes vérének alvadási idejére. A dózisok: 1-6.25 mg/kg, 2-12.5 mg/kg; *tht* - a terápiás antikoaguláns hatás tartománya

- A D-Phe-Pro-Arg-H in vivo trombózis-modellekisérletekben is hatásosnak bizonyult - hasonlóan a terápiában napjainkban alkalmazott orális antikoagulánsokhoz, és ellentétben a vérlemezkék anyagcseréjét in vitro különböző támadáspontokon gátló vegyületekkel. Ezt szemlélteti a 9. ábra. (Dózisonként 5-5 állat, kontrollként 10).

A D-Phe-Pro-Arg-H nemcsak kémiai, hanem biológiai értelemben is specifikus trombin-inhibitor. A vérnek sem a sejt, sem az oldott alkotórészeivel nem lép olyan kapcsolatba, amely befolyásolná más szabályozó rendszereket. Ez a magyarázata kedvező terápiás indexének. Toxikus dózisokban sem okoz vérzést - szemben a heparinnal és az orális antikoagulánsokkal - minthogy közömbös a lemezke membránra.



A A GYKI 14 166 iv. infúziójának hatása a trombus súlyára újlélandi fehér nyulak kísérletes trombózis modelljében

B A GYKI 14 166 egyszeri orális dózisának hatása a trombus súlyra újlélandi fehér nyulak kísérletes trombózis modelljében

A heparin kémiajára vonatkozó újabb kutatások eredményeként frakcionált, hatásosabb készítményeket alkalmaznak a trombózis gyógyításában. Három lényeges biológiai sajátosságukban azonban ezek sem különböznek a régiektől: hatástalanok szájon át adva (1), hatástalanok az AT III veleszületett vagy szerzett hiányában (2) és alkalmazhatatlanok krónikus kezelésre - polianion jellegükből következő igen széleskörű biológiai reakcióképességük miatt (3). A kumarin és indandion szerkezetű orális antikoagulánsok hatásmechanizmusának megismerése nyomán az is kiderült, hogy gamma-karboxiglutaminsavakat tartalmazó (K-vitamtól függő) fehérjék nemcsak a véralvadási rendszer fehérjéi között találhatóak. Így az orális antikoagulánsok biológiai specificitása - s ezzel szoros összefüggésben toxicitásuk és terápiás indexük vonatkozásában aligha várható lényeges fejlődés. Mindezek a tények gyakorlati nézőpontból is megindokolják új típusú inhibitor (antikoaguláns) kifejlesztését.

A tripeptid aldehidek biokémiai farmakológiájára vonatkozó évtizedes kutatómunkánk eredményei arra engednek következtetni, hogy a D-Phe-Pro-Arg-H (GYKI 14 166), ez a kémiai és biológiai értelemben egyaránt specifikus trombin-inhibitor új fejezetet nyithat meg a trombózis betegség megelőzésében és gyógyításában.

Bagdy Csárdi

I r o d o l o m :

1. D.Bagdy et al.: Abstracts, ISH-ISBT Congr. Paris. 1978. No. 157.
2. D.Bagdy et al.: Thrombos. Haemostas. 46(1) 296, /1981/.
3. D.Bagdy et al.: Folia Haematol. Leipzig. 109(1) 22, /1982/.
4. D.Bagdy et al.: Thrombos. Haemostas. 50, 53 /1983/.
5. Bagdy D. éa mtsai : Kísérletes Orvostudomány 35, 650, /1983/.
6. D.Bagdy et al.: Abstracts, VIIth Int. Congr. on Thrombosis, Istanbul /1984/. No. 229.
7. D.Bagdy et al.: Drugs of the Future 10(10) 835, /1985/.
8. S.Bajusz et al.: in Peptides. (Eds.: R. Walter and J. Meienhofer). Ann Arbor Sci. Publ. Inc. p. 603 /1975/.
9. S.Bajusz et al.: Int. J. Peptide Prot. Res. 12, 217 /1978/.
10. S.Bajusz et al.: Folia Haematol. Leipzig. 109. 16, /1982/.
11. Bajusz S.: Magyar Kémikusok Lapja 37(8) 358, (1982/.
12. S.Bajusz et al.: Peptides acting upon haemostasis. in Biomedical Significance of Peptide Research (Eds. P.A. László and F. Antoni). Akadémiai Kiadó, Budapest 1984.
13. B.R. Baker, E.H. Erickson.: J. Med. Chem. 12, 112, /1969/.
14. A.J. Barrett : in Enzyme Inhibitors as Drugs. (Ed.: M. Sandler) The Macmillan Press Ltd. London, 1980. p. 219.
15. B. Blomback et al.: J. Biol. Chem. 247, 1496 /1972/.
16. B. Blomback et al.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 24, Suppl. 107. p. 59. /1969/.
17. E.W. Davie et al.: in Adv. in Enzymol. (Ed. A. Meister) 48, 277, /1979/.
18. S. Elődi, P. Elődi : Mol. Asp. of Medicine 6, 291-353 /1983/.
19. L.C. Dorman et al.: in Chemistry and Biology of Peptides (Ed. J. Meienhofer) p. 455. Ann Arbor Sci. Publ. /1972/.
20. J.D. Geratz : Folia Haematol. Leipzig. 98, 455, /1972/.
21. J.D. Geratz, R.R. Tidwell : Haemostasis 7, 170, /1978/.
22. J. Hauptmann, F. Markwardt : Thrombos. Res. 20, 347, /1980/.
23. C.M. Jackson, Y. Nemerson : Ann. Rev. Biochem. 49, 765, /1980/.
24. Ch. Kettner, E. Shaw : Thrombos. Res. 14, 969, /1979/.
25. R. Kikumoto et al.: J. Med. Chem. 23, 830, /1980/.
26. L. Lóránd, E.P. Yudkin : Biochim. Biophys. Acts 25, 437, /1957/.
27. L. Lóránd et al.: Arch. Biochem. Biophys. 102, 171, /1963/.
28. L. Lóránd, J.L.G. Nilsson : in Ariens Drug Design. Med. Chemistry, Vol. II-III. p. 415. Acad Press New York, 1972.
29. S. Magnusson : Folia Haematol. Leipzig. 98, 385, /1972/.
30. F. Markwardt et al.: Eur. J. Biochem. 6, 602, /1968/.
31. F. Markwardt et al.: Thromb. Diath. haemorrh. 24, 240, /1970/.
32. F. Markwardt : Haemostasis 3, 185, /1974/.
33. F. Markwardt : Trends in Pharm. Sci. 1, 153, /1980/.
34. K.D. Miller et al.: Thromb. Diath. haemorrh. 13, 575, /1965/.
35. Y. Nemerson, H.M. Nossel : Ann. Rev. Med. 33, 479, /1982/.
36. S. Okamoto et al.: Thrombos. Res. Suppl. II. /1976/. p. 77.
37. M.A. Packham, J.F. Mustard : Circulation 62, Suppl. V. /1980/.
38. J.L.M.L. van Rijn et al.: Arzneim.-Forsch./Drug Res. 33, (II) Nr. 9a, 1366/1983/.
39. N.R. Rule, L. Lóránd : Biochim. Biophys. Acta 81, 130, /1964/.
40. H.J. Smith : J. theor. Biol. 73, 531, /1978/.
41. J. Stürzebecher et al.: Thrombos. Res. 9, 637, /1976/.
42. K.F. Tipton : Biochem. Pharmac. 22, 2933, /1973/.
43. K.F. Tipton : in Enzyme Inhibitors as Drugs. (lásd: 14.)
44. R.R. Tidwell et al.: Thrombos. Res. 19. 339, /1980/.
45. H. Umezawa : Enzyme Inhibitors of Microbial Origin. Univ. of Tokyo Press. Tokyo, 1972.
46. M. Verstraete, R. Verwilghen : in Drug Treatment. 2nd Ed. (Ed. G.S. Avery) Churchill-Livingstone, Edinburgh-London. 1980. p. 919.

A Magyar Biokémiai Társaság első elnökének, TANKÓ BÉLA professzor emlékére létesített alapítvány ezévi pályadíjának elnyerésére beérkezett munkák közül a bíráló bizottság Dévay Piroska és Csermely Péter pályázatát ítélte jutalomra érdemesnek.

A *Drosophila* tanulásának molekuláris mechanizmusáról

Elemi, azaz sejtszintű memóriának azt tekintjük, ha egy adott tanulási folyamatban érintett idegsejtek közül egyesek működési állapota úgy változik meg, hogy ez az eredeti magatartás módosulásához vezet. Ha fel akarjuk deríteni, mely biokémiai folyamatok felelősek a memória kialakulásáért, akkor a biokémiai vizsgálatokkal egyidőben más módszerekkel is igazolni kell, hogy az idegsejt működési állapota valóban megváltozott. Ezért használnak általában puhatestűeket az ilyesfajta kísérletekre, mivel egyrészt idegsejtjeik nagy mérete miatt a biokémiai reakciókkal párhuzamos elektrofiziológiai változások is könnyen követhetők, másrészt pedig idegrendszerük egyszerű volta lehetővé teszi az adott tanulási folyamatban közreműködő idegsejtek azonosítását.

Az utóbbi évtizedben azonban - a genetika és a biokémia összefonódása következtében - néhány kutatócsoport a *Drosophila melanogaster*rel kezdett el kísérletezni. Ugyanis a muslinca géntérképe jól ismert, tucatnyi tanulási és memória-mutánsa van, sőt további mutációkat is könnyű indukálni. Ilyen módon tehát a tanulásért felelős biokémiai folyamat más-más pontját érintő mutációk segítségével kutatható az, hogy milyen lépésekből áll és miképpen szabályozódik ez a folyamat.

Kutatócsoportunk olyan memória-mutáns *Drosophila* törzseket vizsgál, amelyeknél a mutáció a ciklikus nukleotid foszfodieszteráz egyik izoenzimjének (PDE II) génjét érinti. Ezáltal kiesik a cAMP-hidrolizáló aktivitás egy része, és így ezekben az állatokban a cAMP-szint többszöröse a normális, azaz a vad-típusú muslincákban mértnek /Davis és Kiger 1981/.

Első munkánkban azt mutattuk ki, hogy a PDE II a mutáns idegrendszeréből is hiányzik, a vad típusában viszont megtalálható /Solti és mtsai 1983/.

A cAMP az egyik legfontosabb sejten belüli másodlagos hírvi-

vő. Támadáspontja a cAMP-függő proteinkináz, amely cAMP hatására aktiválódik és más fehérjék foszforilálásán keresztül hat a sejtműködésre. A foszforilációt a foszfatázok működése teszi reverzibilissé: ezek az enzimek hidrolizálják a fehérjék aminosav-oldalláncaira épült foszfátcsoportot.

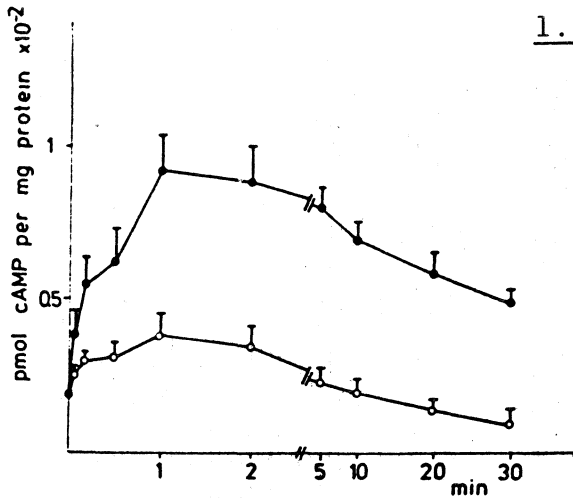
Feltételezésünk az volt, hogy a memória-mutáns törzsben a magasabb cAMP-szint eredményeként felerősödik a fehérjefoszforiláció. In vivo foszforilációs kísérletekkel igazoltuk a foszfoproteinek elektroforetikus elválasztás utáni vizsgálatakor - , hogy van/nak/ olyan kb. 110 KD molekulatömegű fehérjé/k/, amely/ek/ foszforiláltsági állapota a memória-mutáns törzsekben magasabb, mint a vad típusban /Dévay és mtsai 1984/. Ez alátámasztotta kezdeti hipotézisünket, hogy a mutánsokban fokozódik bizonyos szubsztrátfehérjék foszforilációja.

A cAMP-függő proteinkináz szubsztrátfehérjéit in vitro jellemeztük. Azt találtuk, hogy cAMP hatására különösen erősen változik meg egy 53 KD molekulatömegű fehérje foszforiláltsági állapota. Ez a változás sokkal szembeötlőbb, ha idegszövetből készült homogenizátumban vizsgáljuk ennek a fehérjének a foszforilációját, mint akkor, ha a kísérleteket teljes állatok homogenizátumában végezzük el. /Dévay és mtsai 1984/. A továbbiakban sikerült azonosítani is az 53 KD molekulatömegű fehérjét: ez a cAMP-függő proteinkináz regulátor alegysége /Dévay és mtsai 1985/.

A regulátor alegységről már korábban megállapították, hogy „ragadós” fehérje, amely képes odakötődni más fehérjékhez és membránokhoz /Nigg és mtsai 1985, Kuettel és mtsai 1985/. Azt is tudjuk, hogy a proteinkinázon belül a regulátor és a katalitikus alegység kapcsolatát lazítja, ha a regulátor alegység foszforilált állapotban van /Rangel-Aldao és Rosen 1976/. Ezért úgy gondoljuk, hogy a regulátor alegység foszforiláltsági állapotának megváltozása az alegységnek más fehérjékhez való kötődését - és ezen keresztül a proteinkináz sejten belüli elhelyezkedését is módosíthatja - ezáltal átrendezheti a foszforiláció soecificitását.

Mivel a proteinkináz in vivo nem diffúzan, hanem meghatározott strukturákhoz kötötten fordul elő, nagyon fontos az intakt sejtben hozzáférhető szubsztrátok felderítése és jellemzése. Ezért túlélő lárva-agypreparátumokban vizsgáltuk meg azt, hogy a cAMP -

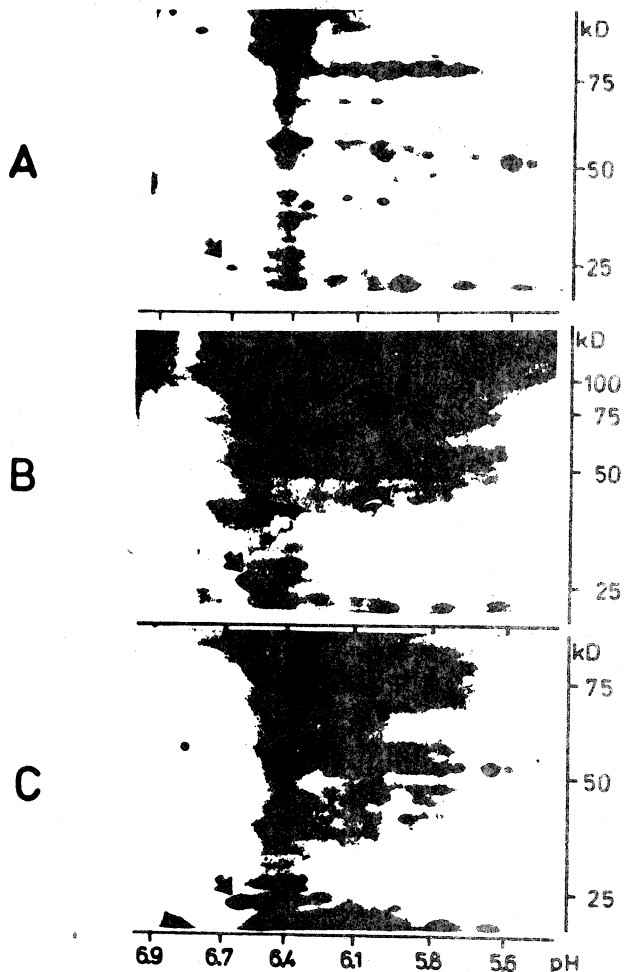
szintet megemelő drogok mennyire változtatják meg a cAMP-koncentrációt és -kétdimenziós elektroforézissel történt elválasztás után - a fehérjefoszforilációs mintázatot. A cAMP-szintet megemelő drogok (forskolin, dopamin, szerotonin, oktopamin) hatására /lásd az 1. ábrát/ az autoradiogrammon felerősödik egy 27.5 KD molekulatömegű folt-sor jelölődése /lásd a 2. ábrát/.



1. ábra Radioimmunassay-vel mért cAMP-tartalom lárvaagyakban
 ● 10 mM teofillin + 1 mM oktopamin
 ○ 10 mM teofillin jelenlétében

2. ábra A cAMP-szintet emelő drogok hatása a foszforilációs képre

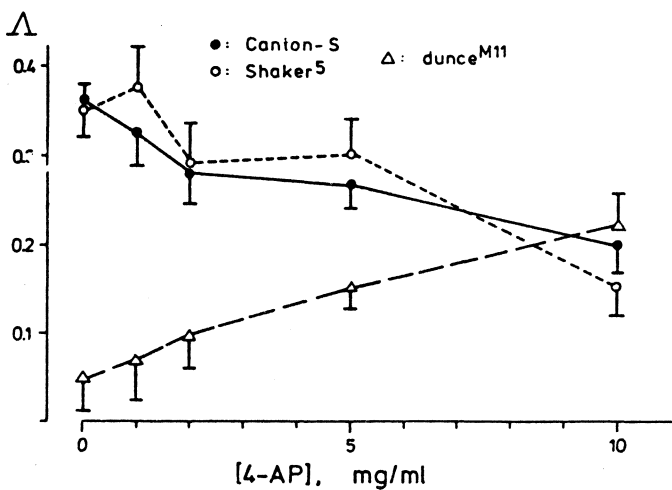
- A : kontroll 10 mM teofillin
 B : 1 mM oktopamin + 10 mM teofillin
 C : 10 uM forskolin + 10 mM teofillin



Különösen érdekes a 2. ábra foltosorának első tagja, mert ez 4-aminopiridin hatására is fokozottan foszforilálódik, holott a 4-aminopirimidin nem emeli a cAMP-szintet, hanem a K^+ -csatornát gátolja. A K^+ -csatorna foszforilációja pedig kulcsszerepet játszik a tengeri csigáknál már jól jellemzett elemi memória-mechanizmusokban /Kandel és Schwartz 1982, Neary és Alkon 1983/.

A 4-aminopiridin nemcsak a fehérjefoszforilációs mintázatra hat, hanem a szag-áramütés tesztben kialakuló asszociatív tanulásra is. Ha a muslincákat 4-aminopiridint különböző koncentrációkban tartalmazó cukoroldattal etetjük, akkor a vad típusú Canton S és a K^+ -csatorna-mutáns shaker törzs tanulási indexe a 4-aminopiridin koncentrációjának növekedésével csökken, a memória-mutáns dunce M¹¹ viszont emelkedik.

3. ábra 4-aminopiridin hatása a *Drosophila* törzsek tanulási indexére ()

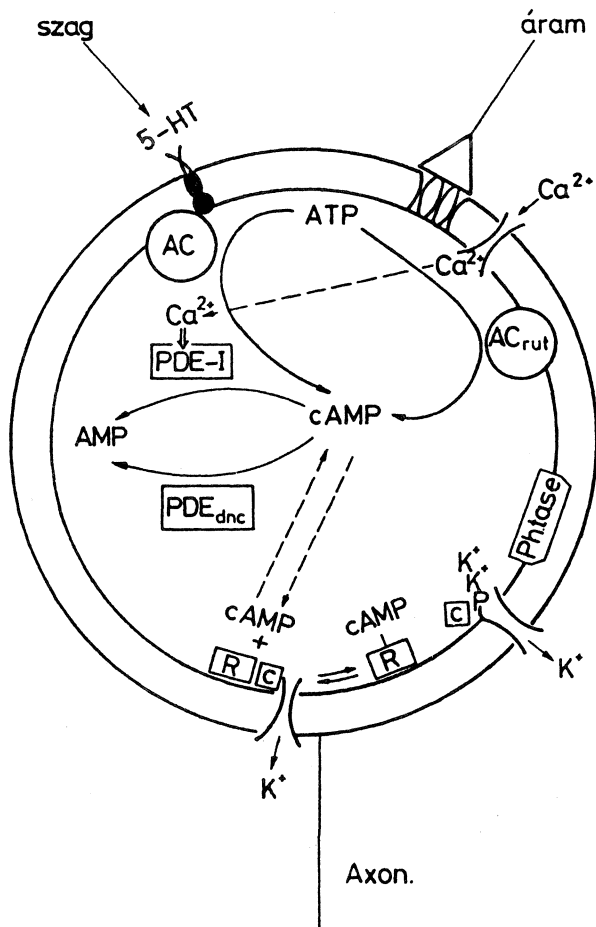


Kísérleteink arra utalnak, hogy a 4-aminopiridin hatására foszforilálódó fehérje kapcsolatban állhat a K^+ -csatornával és az asszociatív tanulásban is szerepet játszhat. További munkánkban ezt a fehérjét szeretnénk majd izolálni és jellemezni.

A *Drosophila* szag-áramütés tanulás értelmezésére - részben mások eredményei, részben saját kutatásaink alapján modellt állítottunk fel / lásd a 4. ábrát/. Az ábrán egy hipotetikus gátló-neuron képe látható, amelynek aktivitása megszünteti a pozitív fototaxist, vagyis azt a magatartási jelenséget, amelynek módosulását a tanulási indexszel mérjük. A gátló-neuron kétfelől kap jelet: a szagot közvetítő, feltehetően szerotonin (5-hidroxitriptamin) neurotranszmitterrel működő szinapsison át és az áramütést közvetítő, a gátló-neuronban akciós

potenciált kiváltó másik szinapszison keresztül.

4.ábra A szag-áramütés tanulás
hipotetikus mechanizmusa
Drosophila neuronban



AC = adenilcikláz

PDE = foszfodiészteráz

Phtase = foszfoprotein-
foszfátáz

R = a proteinkináz regulátor
alegysége

C = a proteinkináz katalitikus
alegysége

A Drosophilában az adenil-
cikláznak két különböző ka-
talogikus alegysége van /Li-
vingstone 1985/ : az egyik
 Ca^{2+} /kalmodulinnal aktivál-
ható és aktivitása neuro-
transzmitterekre nem érzékeny,
a másokra hatástalan a Ca^{2+} /
kalmodulin, viszont a neuro-
transzmitterek a receptoron
keresztül képesek aktiválni
azt. Feltételezésünk szerint
ez utóbbi alegység állna kap-
csolatban a szagingerrel. A

receptorhoz kötődő adenilcikláz szerotonin hatására aktiválódik és cAMP-t termel. Még mielőtt ez a cAMP-szintemelkedés lecsengene, az áramütés során kiváltott akciós potenciál során beáramló Ca^{2+} serkenti a Ca^{2+} /kalmodulin-függő adenilcikláz működését, ez pedig tovább emeli a cAMP-koncentrációt. A cAMP hatására aktiválódik a K^+ -csatorna közelében lévő sejtstrukturához kötött proteinkináz, ami foszforilálja a csatorna-fehérjét. A foszforiláció következtében a csatorna átjárhatósága gátolt lesz, a lelassult K^+ -kiáramlás akadályozza a membrán-repolarizációt, így a sejt ingerküszöbe lecsökken. Mindennek eredményeképp a fokozottan ingerlékeny gátló-neuron immár a gyenge szagingerre is tüzelni fog, azaz kialakult a kondicionált állapot. E megváltozott magatartás addig marad fenn.

amíg a foszfatáz enzim el nem távolítja a foszfátcsoportot a K^+ -csatornáról. A rutabags mutáns azért nem képes tanulni, mert a két adenilcikláz közül az egyik nem működik /Livingstone 1985/, így a cAMP-jel nem éri el a kritikus nagyságot. A dunce mutánsnál pedig, ahol a cAMP-t hidrolizáló egyik foszfodiészteráz hiányzik, az állandóan magas cAMP-szint eluálja a K^+ -csatorna mellől a katalitikus alegységet, így a cAMP-impulzus beérkezésekor nincs a K^+ -csatorna közelében kináz, a foszforilációs emléknym rögzülése tehát nem következik be.

További munkámban e hipotézis egyes elemeit szeretném vizsgálni.

DÉVAY PIROSKA

I r o d a l o m

- Davis R.L. and Kiger J.A.Jr./1981/ : dunce mutants of drosophila melanogaster : Mutants defective in the cyclic AMP phosphodiesterase enzyme system. J.Cell.Biol. 90, 101-107
- Dévay P., Pintér M., Yalcin A.S. and Friedrich P./1985/ : Altered autophosphorylation of cAMP dependent protein kinase in the dunce memory mutant of Drosophila melanogaster. J.Neurochem. in press
- Dévay P., Solti M., Kiss I., Dombrádi V. and Friedrich P./1984/ : Differences in protein phosphorylation in vivo and in vitro between wild type and dunce mutant strains of Drosophila melanogaster. Int.J.Biochem. 16, 1401-1408.
- Kandel E.R. and Schwartz J.H./1982/ : Molecular biology of learning. Modulation of transmitter release. Science 218, 433-443.
- Kuettel M.R., Squinto S.P., Kwast-Welfeld J., Schwoch G., Schweppe J. S. and Jungmann R.A./1985/ : Localization of nuclear subunits of cyclic AMP-dependent protein kinase by the immunocolloidal gold method. J.Cell Biol. 101, 965-975.
- Livingstone M.S./1985/ : Genetic dissection of Drosophila adenylate cyclase. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 82, 5992-5996.
- Neary J.T. and Alkon D.L./1983/ : Protein phosphorylation/dephosphorylation and the transient, voltage-dependent potassium conductance in Hermisenda crassicornis. J.biol.Chem. 258, 8979-8983.
- Nigg E.A., Schafer G., Hilz H. and Eppenberger H.M./1985/ : Cyclic-AMP-dependent protein kinase type II is associated with the Golgi complex and with centrosomes. Cell 41, 1039-1051.

Rangel-Aldao R. and Rosen O.M./1976/ : Dissociation and reassociation of phosphorylated and non-phosphorylated forms of cAMP-dependent protein kinase from bovine cardiac muscle. *J.biol.Chem.* 251,3375-3380.

Solti M., Dévay P., Kiss I., Londesborough J. and Friedrich P./1983/: Cyclic nucleotide phosphodiesterase in larval brain of wild type and dunce mutant strains of Drosophila melanogaster: Isoenzyme pattern and activation by Ca^{2+} /calmodulin. *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 111,652-658.

FEBS SUMMER SCHOOL

(Advanced Course)

GÖD, Hungary

9-20 September, 1986.

IMMUNOLOGICAL METHODS AND APPLICATIONS

LECTURES: Structure and function of the immune system ; antigens and antibodies ; antibody production by cell-hybrids ; the application of immunological methods in the study of the structure of proteins, nucleic acids and polysaccharides ; the complement system ; methods based on the investigation of the complement system ; cell-membrane structures, receptors, application of immunological methods in cell research.

DEMONSTRATIONS and PRACTICES: antigen binding tests, immunodiffusion techniques ; application of immunosorbent techniques ; RIA and ELISA techniques ; cell separation methods and culturing ; investigation of cell-membrane structures by immunological methods ; lymphocyte proliferation and antibody production assays ; cytotoxic reactions ; hybridoma technique.



F I G Y E L E M !

Az érdeklődők
s ü r g ő s e n
forduljanak

Egyesületünk titkárságához

Students will be accommodated at Göd.
The language of the course will be English.

Course organizer : J.GERGELY

RETIKULUM Ca^{2+} -ATP-ázzal

Közel egy évtizede ismeretes, hogy vanádium anionok más enzimekhez, így a foszfortranszferázok jelentős részéhez, valamint a Na^+ - K^+ -ATP-ázhoz hasonlóan a szarkoplazmatikus retikulum Ca^{2+} -ATP-áznak is jó gátlószerei. A vanádium anionok és a Ca^{2+} -ATP-áz kölcsönhatása a legutóbbi időkben Dux László és Anthony Martonosi munkája nyomán került reflektorfénybe. Dux és Martonosi kimutatták, hogy vanádium anionok hozzáadásával (amelyek az enzimet az úgynevezett E_2 -es konformációban stabilizálják) a Ca^{2+} -ATP-áz a szarkoplazmatikus retikulum vezikulákban kétdimenziós kristályos elrendeződést vesz fel (1). A kristályos elrendeződés röntgendiffrakciós analízisével információt lehetett kapni az enzim háromdimenziós szerkezetéről (2).

Nátrium-orto-vanadát (Na_3VO_4) a Ca^{2+} -ATP-áz kristályosodását az enzim gátlásához szükségesnél mintegy tízszer nagyobb koncentrációban idézi elő (3,4). (50 %-os gátláshoz kb. 50 μM , 50 %-os kristályosításhoz kb. 500 μM vanadát szükséges.) A nátrium-orto-vanadát hatására bekövetkező kristályosodás sebességének és mértékének ezen és hasonló jellemzői vezettek arra a feltételezésre bennünket, hogy a Ca^{2+} -ATP-áz kristályosodásának az enzim E_2 -es konformációban való rögzítése esetleg csak szükséges, de nem elégséges feltétele. Induló munkahipotézisünk az volt, hogy a kétdimenziós kristályos szerkezet kialakulását a vanádium ionok alacsony affinitású kötőhelyhez való kötődése és/vagy a milimólos koncentráció tartományban jelentkező vanadát-oligomereknek a Ca^{2+} -ATP-ázzal való kölcsönhatása is elősegítheti, stabilizálhatja. Az alábbiakban ismertetendő vizsgálataink az utóbbi feltevést valószínűsítik.

Vanádium anionok vizes közegben koncentráció- és pH függően számos formában (mono-, di-, tetra-, penta-, hexa- és dekavanadát) előfordulhatnak. A különböző vanádium anionok megoszlását ^{51}V -NMR spektroszkópia segítségével tanulmányoztuk (3,5). Méréseinkkel igazoltuk, hogy a mono- és oligovanadát ionok között gyors kinetikájú, egyensúlyra vezető átalakulások zajlódhatnak. Ezzel ellentétben a dekavanadát ionok neutrális pH-n termodinamikailag instabil, de kinetikailag hozzátétőlegesen inert formát jelentenek. Így dekavanadát ionok neutrális pH-n nem képződnek, de a savas pH-n (pH 6.5 alatt) képzett dekavanadát ionok pH 7.4-en korlátozott ideig megőrizhetők. A fentiek ismeretében lehetőségünk nyílt olyan kísérleti körülmények kidolgozására, amelyek között mono- és dekavanadát anionoknak a szarkoplazmatikus retikulum Ca^{2+} -ATP-ázra gyakorolt hatását viszonylagosan elkülönítet-

ten tudtuk vizsgálni (a viszonylagos szó a dekavanadát oldat kb. 20-25 %-os monovanadát tartalmára utal).

A mono- és dekavanadát anionoknak a szarkoplazmatikus retikulum vezikulákhoz való kötődését centrifugálós elválasztással és oxidáló sajátosságokon alapuló kémiai meghatározással vizsgáltuk (3,4). A dekavanadát ionok kötődését a fentiekén túl, sárga színük alapján direkt módon is meghatároztuk. A különböző meghatározások egyaránt arra utalnak, hogy a szarkoplazmatikus retikulum fehérjéinek túlnyomó többségét kitevő Ca^{2+} -ATP-ázhoz kb. 1 mol monovanadát és 1.4-2.1 mol dekavanadát kötődik enzim molekulánként. Milli-mólos koncentrációjú monovanadát oldat esetén oligovanadát ionok kötődése is megfigyelhető. A monovanadát és az egyik dekavanadát kötőhely látszólagos disszociációs konstansa 50 μM körüli érték. Ez az érték jó egyezést mutat azzal, hogy a Ca^{2+} -ATP-áz aktivitás 50 %-os gátlása mind mono-, mind dekavanadát esetén szintén 50 μM körüli koncentrációtartományban következik be (4). Az oligovanadát ionok és a dekavanadát ionok egy további része a milli-mólos koncentrációtartományban kötődik a Ca^{2+} -ATP-ázhoz. A Ca^{2+} -ATP-áz kétféle („magas” és „alacsony” affinitású) vanádiumkötőhelyének létét vizsgálataink óta az irodalomban számos különböző módszerrel (fluorimetriás, ESR spektroszkópiás vizsgálatok) megerősítették.

A már említett ^{51}V -NMR vizsgálatokat a különböző vanádium anionok a Ca^{2+} -ATP-ázhoz való kötődésének jellemzésére is felhasználtuk (5). A vanadát ionok kötődése a vanádium atommagok immobilizálódásával jár, amelyet az adott NMR-csúcs kiszélesedése (eltűnése) jelez. Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az alacsony affinitású kötőhely telítésekor a különböző vanadát anionoknak a Ca^{2+} -ATP-ázhoz való affinitása a deka-, tetra-, di-, monovanadát sorrendben rohamosan csökken (5).

Fenti megállapításaink azt mutatják, hogy a különböző vanadát anionok kötődésében negatív töltéseik száma és eloszlása nagy szerepet játszik. Ez a kötőhelyeken pozitív töltésű csoportok (Lys, Arg) jelenlétére utal. E feltételezésünket amino- és guanidino-csoport reagenseknek a vanádium kötődésére és kristályosító képességére való hatásával vizsgáltuk meg.

A szarkoplazmatikus retikulum Ca^{2+} -ATP-áz egyik legjobban feltérképezett ilyen reagense a szelektíven az enzim 3/190-es lizin csoportjához kötődő fluoreszcein-5'-izotiocianát (FITC). Eredményeink azt mutatják, hogy a FITC a monovanadát kötésével nincs kölcsönhatásban. Ugyanakkor FITC előkezelés a dekavanadát kötőhelyek számát a felére csökkenti és fordítva: dekavanadát jelenlétében a FITC kötődés jelentős mértékben visszaszorított. Dekavanadátal az enzim FITC okozta irreverzibilis (kovalens) inaktiválódása kivédhető,

erre a hatásra a monovanadát ionok nem képesek (6). Így a 3/190-es lizin jelenléte az egyik, alacsony affinitású dekanadát kötőhely közelében valószínűsíthető.

A Ca^{2+} -ATP-áz mind mono-, mind dekanadát indukált kétdimenziós kristályosodását a FITC kezelés nem befolyásolja (6). A vanádium kötődési adatok ismeretében így valószínűsíthető, hogy az egyik, az alacsony affinitású dekanadát kötőhely a kristályosodás elősegítésében nem játszik számottevő szerepet. A magas affinitású dekanadát kötőhelynek a Ca^{2+} -ATP-áz kristályosodásában játszott szerepét támasztja alá az a tény is, hogy dekanadát esetében a kristályosodás már 30-60 μM összes vanádium koncentrációnál 50 %-os (4).

Látszólagos ellentmondás fedezhető fel a nagy affinitású dekanadát kötőhely szükségessége és azon korábbi állítás között, hogy 50 %-os kristályosítás monovanadáttal csak 500 μM -os koncentrációtartományban érhető el. Ezen ellentmondás azzal magyarázható, hogy egy ilyen --viszonylag magas-- vanádiumkoncentrációra nem egy kis affinitású vanádiumkötőhely telítése miatt, hanem a nagy affinitású oligovanadát kötőhelyek telítésére „darabszám szerint” elegendő oligovanadát ionok „termeltetése” miatt van szükség.

Vizsgálatainkat a FITC mellett más aminos csoport reagensekre (piridoxál-foszfát, fluoreszkamin) is kiterjesztettük. Eredményeink azt mutatják, hogy e reagensek sincsenek hatással a Ca^{2+} -ATP-áz dekanadát által indukált kristályosodására. Ezzel ellentétben az enzim kristályosodási hajlama arginin-reagensekkel (butándion, fenilglioxál) megszüntethető. Így a kristályosodásért felelős kötőhely közelében arginin csoport(ok) jelenléte valószínűsíthető (7,8).

Vizsgálataink utolsó részében arra a kérdésre kerestünk választ, hogy az enzim Ca^{2+} ionok által indukált E_2 -es konformációja vajon jelent-e konformációs különbséget az enzim másodlagos szerkezetének a szintjén? Cirkuláris dikroizmus mérésekkel igazoltuk, hogy az enzim kb. 45 % α -hélix, 7 % β -redőzött lemez, 13 % β -„hajtű” és 35 % β („rendezetlen”) szerkezete mind az E_1 -es, mind az E_2 -es konformációban változatlanul megmarad (9,10). A konformációs analízist olyan mintákon is elvégeztük, amelyekben az $E_1 \rightarrow E_2$ konformációs átmenetek meglétét fluorimetrikusan közvetlenül bizonyítani lehetett. E megfigyeléseink arra utalnak, hogy a Ca^{2+} -ATP-áz működéséhez szükséges $E_1 \rightarrow E_2$ konformációs átmenetek inkább az enzim harmadlagos szerkezetének a Tanford által javasolt „zsanér”-szerű megváltozásával jönnek létre.

A fenti kísérleteket Anthony N. Martonosi professzor munkacsoportjában (State Univ. New York, Syracuse, USA) végeztem. A kutatásaimhoz, kutatói fejlődésemhez nyújtott állandó támogatásukért Martonosi és Somogyi János (SOTE I.sz. Kémiai-Biokémiai Intézet, Budapest) professzorokat, a Ca^{2+} -ATP-áz kristályosításával kapcsolatos vizsgálatokért Varga Sándor barátomat (DOTE Központi Kutató Laboratórium, Debrecen), a cirkuláris dikroizmus mérésekben való segítségéért pedig Bonnie A. Wallace-t (Columbia University, New York, USA) illeti köszönet.

Csermely Péter

SOTE I. sz. Kémiai-Biokémiai Intézet
Budapest

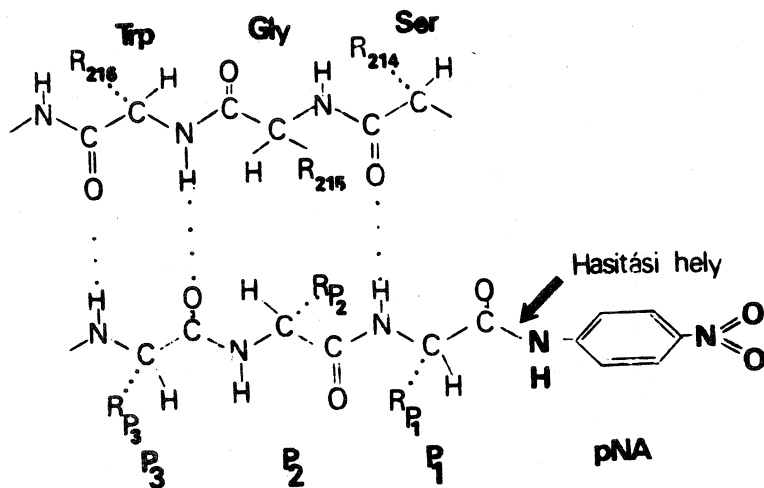
Hivatkozások:

1. Dux, L. és Martonosi, A. (1983) J. Biol. Chem. 258, 2599-2603; 1011-1015; 11896-11902; 11903-11907
2. Taylor, K.A., Dux, L. és Martonosi, A. (1984) J. Mol. Biol. 174, 193-204
3. Csermely, P., Varga, S. és Martonosi, A. (1985) Biophys. J. 47, 457a
4. Varga, S., Csermely, P. és Martonosi, A. (1985) Eur. J. Biochem. 148, 119-126
5. Csermely, P., Martonosi, A., Levy, G.C. és Eychart, A.J. (1985) Biochem. J. 230, 807-815
6. Csermely, P. Varga, S. és Martonosi, A. (1985) Eur. J. Biochem. 150, 455-460
7. Varga, S., Csermely, P., Müllner, N. és Martonosi, A. (1986) Biophys. J. 49, 571a
8. Varga, S., Csermely, P., Müllner, N. és Martonosi, A. előkészületben
9. Csermely, P., Katopis, Ch., Papp, S., Wallace, B.A. és Martonosi, A. (1986) Biophys J. 49, 562a
10. Csermely, P., Katopis, Ch., Wallace, B.A. és Martonosi, A. (1986) J. Biol. Chem. nyomtatás alatt

A PANKREÁSZ ÉS LEUKOCITA KIMOTRIPSZIN SZUBSZTRÁTSPECIFITÁSÁNAK
VIZSGÁLATA SZINTETIKUS SZUBSZTRÁTOKKAL

A szerin proteínázok gyakorlatilag minden sejtben megtalálhatók és sokféle, a sejt homöosztázisával kapcsolatos funkciót töltenek be. Minthogy anomális aktivitásuk egyes betegségek esetén a kóros állapot indikátora, illetve hozzájárul a tünetek kialakulásához is, aktivitásuk meghatározása diagnosztikus értékű lehet.

Az általános gyakorlat szerint a szerin proteínázokat primer specifitásuk alapján jellemzik, így megkülönböztetnek tripszin, kimotripszin, elasztáz stb. típusú enzimeket. A tripszin bázikus, a kimotripszin aromás, míg az elasztáz alifás aminosavak melletti kötések hasításában a leghatékonyabb. Ugyanakkor a proteínázok szubsztrátkötő helyei általában több aminosavrészből felépült polipeptid szakasz befogadására alkalmasak, ezért a primer specifitás igényének kielégítése szükséges, de nem minden esetben elégséges feltétele a szubsztrátok kellő sebességgel történő enzimatis bontásának (1. ábra).



1. ábra

Kimotripszin szubsztrátkötő helye

a laboratóriumi diagnosztikában, de a kísérletes munkában is a proteolitikus enzimek aktivitásának szintetikus szubsztrátokkal történő meghatározása kerül egyre inkább előtérbe. Az a kérdés, hogy egy-egy proteínáz számára milyen aminosav-sorrend optimális a szubsztrátban. Ennek meghatározása általában olyan szubsztrát sorozatokkal történik, melyekben egy-egy alhelyen az aminosavak szisztematikusan változnak, és a mért kinetikai állandók összehasonlítása alapján vonnak le következtetéseket.

Számítógéppel végzett regressziós analizissel a vizsgálandó szubsztrátok száma csökkenthető. Ilyen jellegű vizsgálatok -peptid-p-nitroanilid szubsztrátokkal évek óta folynak a DOTE Biokémiai Intézetében (1). Legutóbb a jól ismert szerkezetű marha pankreász kimotripszin szubsztrát specifikitását hasonlítottuk össze a kevésbé ismert felépítésű, humán granulocitából izolált kimotripszin-szerű enzimmel, a katepszin-G-vel, azonos összetételű szubsztrát sorozattal (2, 3). A kimotripszin szubsztrátkötő helyének felépítése röntgendiffrakciós vizsgálatok alapján ismert (4), így a kapott eredményeket összevethettük az elméletileg várható kölcsönhatásokkal. A vizsgált készletből származó néhány szubsztráttal kapott kinetikai állandókat az I. táblázat tartalmazza. A kinetikai adatokból, a többi között, az alábbi következtetések vonhatók le a szubsztrátkötő helyek tulajdonságait illetően:

A P_1 alhely^{*} a primer specifikitást megszabó kötőhelyet tekintve a kimotripszin, közel azonos K_M mellett, mintegy kétszeres sebességgel hasítja a tirozint tartalmazó szubsztrátokat a fenilalanint tartalmazókhöz képest. Feltehetően ez a szubsztrátzseb alján elhelyezkedő szerin hidroxiljával kialakulható hidrogén hídnak tulajdonítható, ami csak tirozinnal jöhet létre. A katepszin G a tirozin tartalmú szubsztrátokat erősen köti, de ez a k_{cat} -ra nincs lényeges befolyással. Míg kimotripszin esetén a triptofán a fenilalaninhoz hasonló hatású, a katepszin G esetében előnytelen, mert a K_M értékét megnöveli. Mindkét enzim képes leucin és

*Az alhelyek P_1 , P_2 stb. rövidítése az enzim szubsztrátkötő helyét alkotó aminosavakat S_1 , S_2 stb. jelöli (Schechter és Berger (5) szerint).

		Kimotripszin		Katepszin G	
		K_M (mM)	k_{cat} (s^{-1})	K_M (mM)	k_{cat} (s^{-1})
1.	PhCO Arg Val Phe	0.220	2.88	0.079	1.96
2.	Suc Arg Val Phe	0.139	19.04	0.383	2.47
3.	Suc Arg Val Phe	0.210	19.15	0.071	0.89
4.	PhCO Arg Pro Phe	0.130	2.00	0.407	3.72
5.	PhCO Arg Pro Tyr	0.142	5.31	0.213	2.36
6.	Suc (OMe) Arg Pro Tyr	0.094	26.66	0.595	2.39
7.	Z Arg Val Leu	0.210	0.58	0.500	0.01
8.	Z Arg Ahx Ahx	0.106	0.59	1.235	0.15
9.	Arg Val Phe	0.893	6.83	0.050	0.28
10.	D-Arg Val Phe	0.127	5.42	0.188	0.63
11.	D-Arg Gly Phe	0.035	0.04	0.787	0.92
12.	D-Arg Ser Phe	0.024	0.38	0.442	3.37
13.	D-Arg Glu Phe	0.151	0.82	0.980	4.03
14.	D-Arg Val Trp	0.112	3.69	1.010	1.33

50 mM Trisz-HCl pH 8.0 pufferben 7% dimetil-szulfoxid tartalom mellett.

Rövidítések: PhCO, benzoil; Suc, szukcinil; Suc(OMe), metoxi-szukcinil; Z, benziloxi-karbonil; Ahx, norleucin

norleucin mellett is hasítani, azonban csak kis sebességgel.

P₂ alhelyen hidrofób aminosavak növelik a kimotriptikus hasítás sebességét, míg a kis méretű oldalláncok a K_M tekintetében bizonyultak előnyösnek. Katepszin G esetében fordított a helyzet.

P₃ alhelyen is egymással ellentétesen viselkedik a két enzim. A kimotripszinhez erősebben kötődnek az arginin tartalmú szubsztrátok, mint az alanin tartalmúak, de katalitikus állandókban nincs lényeges különbség. A katepszin G-hez na-

gyöbb az alanin tartalmú szubsztrátok affinitása, de kisebbek a katalitikus állandók.

P₄ alhelyen a szubsztrátok védőcsoportokat tartalmaznak. Ezek jelenléte általában jobb kinetikai paramétereket eredményezett a szabad N-terminálisú, azonos összetételű tripeptidekhez képest. Metoxi-szukcinil védőcsoport a kimotripszin-nél jelentős k_{cat} növekedést eredményezett az aromás benzoil védőcsoporthoz viszonyítva. Talán ez is azzal magyarázható, hogy a kimotripszinben a megfelelő kötőhelyen szerin van, amely csak a metoxi-szukcinil-csoporttal képes hidrogénhidat alkotni, a benzoil-védőcsoporttal nem. Ez a hatás elmarad a katepszin G-nél, és a benzoil-védőcsoportot tartalmazó szubsztrátok lényegesen jobban kötődnek.

Összefoglalásul megállapítható, hogy bár mindkét enzim elsősorban aromás aminosav mellett képes hasítani, primer specifitásukban is van eltérés, a többi alhelyen pedig teljesen eltérő a viselkedésük. Ebből arra következtethetünk, hogy a katepszin G szubsztrátkötő helye más felépítésű, mint a kimotripsziné. Úgy gondoljuk, hogy a kimotripszinéhez képest kisebb, és hidrofóbabb a katepszin G primer szubsztrátzsebe, S₂ alhelyen feltehetően kisméretű, S₃ és S₄ alhelyeken teljesen apoláros oldallánc helyezkedik el.

TÓZSÉR JÓZSEF

DOTE BIOKÉMIAI INTÉZETE

IRCDALOM

1. Elődi, P., Kiss, I., Cs.-Szabó, G. és Pozsgay, M. (1984) *Symposia Biologica Hungarica* 25, 81-98
2. Tózsér, J., Cs.-Szabó, G., Pozsgay, M., Aurell, L. and Elődi, P. (1986) *Eur. J. Biochem.* (közlés alatt)
3. Cs.-Szabó, G., Tózsér, J., Aurell, L. and Elődi, P. (1986) *Eur. J. Biochem.* (közlés alatt)
4. Sigler, P.B., Blow, D.M., Matthews, B.W. and Henderson, R. (1968) *J. Mol. Biol.* 35, 143-164
5. Schechter, I. and Berger, A. (1967) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 27, 157-162

IN MEMORIAM

FARKAS GÁBOR

A Magyar Tudományos Akadémia rendes tagja, az SZBK Növényélettani Intézet ny. igazgatója, c. egyetemi tanár,

a Leopoldina Német Természettudományi Akadémia (Halle) tagja, a Federation of European Societies of Plant Physiology magyar nemzeti bizottság elnöke, az International Association for Plant Physiology magyar képviselője, a Biochemie und Physiologie der Pflanzen szerkesztő bizottság tagja,

a Munka Érdemérem arany fokozata tulajdonosa



Amikor-1955-ben az akkor még a Földművelésügyi Minisztérium fennhatósága alatt levő Növényvédelmi Kutató Intézetben aspiránskodtam, érdeklődésből elmentem egy oda bejelentett előadásra, amelyet a Martonvásári Mezőgazdasági Kutató Intézet egy munkatársa tartott. Az előadás egészséges és rozsdafertőzött búzanövények légzési útjai közötti különbségekről szólt, különös tekintettel a Krebs-Szentgyörgyi ciklusra. Már az előadás indításakor éreztem, hogy itt valami átlagon felüli készül. A vizsgált kérdés egy általános prob-

lémakörbe helyezése a bevezetésben, a szabatosan fogalmazott mondatok logikus egymásutánja, az eredmények rigurózus dokumentáltsága, a következtetések adekvátsága, mind egy igényes kutató és ragyogó előadó munkájának színvonalasságát tükrözték. De ezek mellett a "tárgyi" jellemzőkön kívül volt még valami ebben az előadásban, amit nehéz megfogalmazni. Talán azt lehetne mondani, "művésziileg lenyűgöző" volt. Mindnyájan éreztük, hogy aki előttünk áll, az nemcsak kiemelkedő tárgyi tudással rendelkező szakember, hanem olyan valaki, aki egész emberi lényét, annak emocionális részével együtt egy magasztos célnak, a tudomány művelésének szentelte. Az, aki ezzel az akkoriban ritkán érezhető, életre szóló élménnyel megajándékozott, Farkas Gábor volt.

Mint később megtudtam, az említett előadás amolyan bemutatkozás volt, mivel szó volt róla, hogy az előadó a Növényvédelmi Kutató Intézetbe kerül. Amikor ez rövid időn belül valóban bekövetkezett, a fiatal kezdő aspiránsban az a merész és egyelőre bizonytalan kimenetelű álom ébredt, hogy közelebbi kapcsolatba kerüljön vele, és tanuljon tőle amennyit csak lehet.

A kapcsolatteremtésre, szerencsémre, két út is kínálkozott. Az egyik az volt, hogy mint aspiráns növényvírusok, tehát a rozsdagombákhoz hasonlóan, obligát paraziták elsősorban tünettani karakterizálását végeztem, és éreztem, hogy itt valahogyan "mélyebbre", a fiziológia, biokémia irányába kellene tovább lépni. A másik út a nyelvek imádata volt mindkettőnk részéről. Még ma is kitörölhetetlen emlékként élnek bennem azok az esték, amikor a laborban egy kibontakozó kollaboráció részleteit hol németül, hol franciául, hol angolul beszéltük meg /angolul akkoriban inkább Ő beszélt, én bólogattam/.

A "team" végül spontán kialakult, velünk volt a ma már akadémikus Király Zoltán is, és a kezdő aspiránsnak a Nature-ban és Virology-ban jelentek meg dolgozatai a dohánymozaikvírus okozta nekrotikus tüneteket kísérő enzimatiszus változásokról az oxidatív anyagcsere szintjén.

A kezdeti és azután egyre fokozódó lendületes közös munka és az azt kísérő megbeszélések, viták végül is mindkettőnkben egy életre szóló egymáshoz tartozás érzését alapozták meg. Ez az érzés végig töretlenül fennmaradt, és úgy érzem, ez jogosít fel arra, hogy Farkas Gáborról tragikusan korai halálával kapcsolatban itt mint tudósról és mint emberről megemlékezzem.

Mint tudós különös hatást tett, rám kutatói mentalitása és kapacitása révén. Jellemző volt rá elsősorban az újszerűségre való törekvés. Ez egyrészt a témaválasztásban tükröződött, hiszen Ő volt a növényi kórélettan megalapítója nemcsak hazai, de nemzetközi szinten is, másrészt az eredmények közlésének stratégiájában. Megszállottja volt annak a ma már közhelynek számító és minden igazi kutató által elfogadott, de az ötvenes években át-törésnek számító és egyáltalán nem népszerű elképzelésnek, hogy olyan új eredményeket kell produkálni, amelyek egy nemzetközi

zsüri próbáját is kiállják, vagyis magas színvonalú nemzetközi folyóiratokban kell publikálni, és ezt idejében kell tenni. Egy ilyen igényesség a tudományos munkával szemben csak egy sor egyéb minőség megléte esetén lehetséges. Ennek felfedésére, hogy mi a valóban új, szüksége volt az egész növényi biokémia globális áttekintésére. Farkas Gábor volt a hazai növényfiziológusok /bár Óvele kapcsolatban jobban szeretem a növénybiokémikus szót/ között az egyetlen, aki bármikor naprakész állapotban tudott a növénybiokémia bármely részterületének aktuális állásáról adekvát információt adni. Bizonyíték erre a több kiadást megért Növényi Biokémia c. könyve, amely, úgy érzem, még sokáig megbízható ismeretforrása lesz nemcsak a hazai kutatóknak, hanem az egyetemi oktatóknak és hallgatóknak is. Ahhoz, hogy az eredmények valóban publikálhatók legyenek, szokatlanul fejlett kritikai érzékre is szükség volt. Ez Nála egyrészt a kísérleti eredmények abszolút megbízhatóságának, másrészt pedig annak megkövetelésében mutatkozott meg, hogy a dolgozatok megírása során minden mondat, minden szó a helyén legyen, csak azt mondja, de azt igen, amit írója ki akar fejezni. Hányszor kérte hiányzó kontrollok beiktatását a kísérletekbe, ami ellen a fiatal kezdők időnként tiltakoztak, és hányszor ültünk estéken keresztül egy-egy mondat felett, annak minden szavát mérlegelve, szinonimákat keresve, radirozva és újrairva, áthúzva és újrafogalmazva! Egy ilyen igényes munka sikeressége csak rigurózus logika végigvitele esetén biztosított. Farkas Gábor további minősége a maximálisan fejlett logikai érzék volt. Ez megmutatkozott a kísérletek tervezése során, a dolgozatok írása közben, előadásaiban és tudománypolitikai kérdések értékelése alkalmával. Mindennemű megnyilatkozásában egy "logikai vonalvezetés" nyilvánult meg. A szakmán kívül ez a tulajdonsága járult hozzá ahhoz, hogy kiváló előadó legyen /többek között a JATE-n egészen addig, míg betegsége ebben meg nem akadályozta, főképp keretében oktatta a növényélettant/, és, hogy tudománypolitikai kérdésekben olyan élesen lásson, mint ahogy látott.

Ezek a fentiekben felsorolt minőségei járultak hozzá ahhoz, hogy már kutatói pályájának kezdetétől a növénybiokémia szaktekintélyévé váljék. Több, mint száz, nemzetközi folyóiratokban megjelent dolgozatát itt nem lehet mind felsorolni. Csupán madártáv-

latból szeretném néhány reprezentatív munkája tükrében azt az utat felvázolni, amelyet, mindig a lényegileg új iránti kíváncsiságától hajtva, végigjárt. Alapvető érdeklődési köre az oxidatív anyagcsere volt, de sohasem kötődött mereven egyféle objektumhoz vagy egyetlen témához. Ha kezdeményező készsége úgy diktálta, belemerült a nukleinsavanyagcsere kutatásába is. Mindjárt pályája kezdetén kiemelkedő dolgozatai jelentek meg az aszkorbinsavoxidáz szerepéről a rozsdafertőzött búza megnövekedett légzésében /1/, a polifenoloxidáz szerepéről a burgonya sztreptomycin-indukálta Phytophthora-rezisztenciájában /2/ vagy a dohánymozaikvirus okozta nekrotikus léziók /3/ és az u.n. lokalizált szerzett rezisztencia /4/ kifejlődésében. Átmenetileg érdekelte a Pseudomonas tabaci toxikus hatásának biokémiai háttere /5-7/, majd hosszú ideig a növényi nukleinsavanyagcsere fertőzés-, szeneszcencia-, és sztrepsz-indukálta változásai foglalkoztatták. Ezeket a vizsgálatokat eleinte egész növényeken /8-12/, majd, érzékenyen reagálva új idők szeleire, egysejt szinten folytatta. Így váltak kedvenc kísérleti objektumaivá eleinte a növényi protoplasztok /13-15/, később pedig a kék-zöld algák. Ugy tűnik, ez volt az a kísérleti objektum, amelyet végül legalkalmasabbnak talált a fertőzést /jelen esetben fágfertőzés/ és sztrepsz-hatásokat /nitrogénéheztetés, fényelvonás/ kísérő nukleinsavanyagcsere változások /16-20/ és a légzés szabályozásában bekövetkező változások /21/ tanulmányozásában. Utolsó, már a végzetes kimenetel felé közeledő betegsége idejére eső kutatói korszakában irt dolgozatai alapján úgy tűnik, - születőben volt egy egységes koncepció az enzimek redox modulációjának mechanizmusát illetően. E koncepció építkezési menetét /22-30/ még láthattuk, de korábbi témáival kapcsolatban irtakhoz /31-32/ hasonló összefoglalását, sajnos, már nem.

Farkas Gábort, mint embert három, a szó legtisztább és legfennköltebb értelmében vett jelzővel lehet illetni: a végletekig tisztességes, igazságos és karizmatikus egyéniség volt. A hideg észt kemény erkölcsi tartással és meleg érzelemmel ötvözte. Ez az egyéniség az, akinek vezetői jelenléte egy állandóan nyitott ajtónál "jó munkahelyi légkört" teremt, akit mindenki szeret és aki élete végén tiszta lelkiismerettel mondhatja magáról, hogy tanítványai vannak, iskolát teremtett.

Farkas Gábor akadémikustól, a tanítótól, a baráttól valamennyi tanítványa nevében szeretettel és mély megrendüléssel búcsúzik az egyik legöregebb azzal a fogadalommal, hogy amit Őtőle tanultunk, tovább visszük és tovább plántáljuk az elkövetkező kutatógenerációba. Hisszük és tudjuk, hogy ezáltal konstruktív módon járulunk hozzá a magyar biokémia és ezen keresztül az egész magyar tudomány jövőjéhez.

SOLYMOSY FERENC

1. Király, Z. and Farkas, G.L. /1957/:
On the role of ascorbic oxidase in the parasitically increased respiration of wheat.
Arch.Biochem.Biophys. 66: 474-485.
2. Vörös, J., Király, Z. and Farkas, G.L. /1957/:
Role of polyphenolase in streptomycin-induced resistance to Phytophthora in potato.
Science, 126: 1178.
3. Solymosy, F., Farkas, G.L. and Király, Z. /1959/:
Biochemical mechanism of lesion formation in virus-infected plant tissues.
Nature, 184: 706-707.
4. Solymosy, F. and Farkas, G.L. /1963/:
Metabolic characteristics at the enzymatic level of tobacco tissues exhibiting localized acquired resistance to viral infection.
Virology, 21: 210-221.
5. Lovrekovich, L. and Farkas, G.L. /1963/:
Kinetin as an antagonist of the toxic effect of Pseudomonas tabaci.
Nature, 198: 710.
6. Lovrekovich, L., Klement, Z. and Farkas, G.L. /1963/:
Effect of Pseudomonas tabaci on the metabolism of starch in tobacco leaves.
Nature, 197: 917.
7. Lovrekovich, L., Klement, Z. and Farkas, G.L. /1964/:
Toxic effect of Pseudomonas tabaci on RNA metabolism in tobacco and its counteraction by kinetin.
Science, 145: 165.
8. Wyen, N.V., Udvardy, J., Solymosy, F., Marrè, E. and Farkas, G.L. /1969/:
Purification and properties of a ribonuclease from Avena leaf tissues.
Biochim.Biophys.Acta, 191: 588-597.

9. Udvardy, J., Farkas, G.L. and Marrè, E. /1969/:
On RNase and other hydrolytic enzymes in excised Avena leaf tissues.
Plant Cell Physiol. 10: 375-386.
10. Wyen, N.V., Udvardy, J. and Farkas, G.L. /1971/:
Changes in the level of acid phosphatases in Avena leaves in response to cellular injury.
Phytochemistry, 10: 765-770.
11. Wyen, N.V., Erdei, Sara and Farkas, G.L. /1971/:
Isolation from Avena leaf tissues of a nuclease with the same type of specificity towards RNA and DNA. Accumulation of the enzyme during leaf senescence.
Biochim. Biophys. Acta, 232: 472-483.
12. Wyen, N.V., Udvardy, J., Erdei, Sara and Farkas, G.L. /1972/:
The level of a relatively purine-specific ribonuclease increases in virus-infected hypersensitive or mechanically injured tobacco leaves.
Virology, 48: 337-341.
13. Lázár, G., Borbély, G., Udvardy, J., Premecz, G. and Farkas, G.L. /1973/:
Osmotic shock triggers and increase in ribonuclease level in protoplasts isolated from tobacco leaves.
Plant Sci. Lett., 1: 53-57.
14. Premecz, G., Ruzicska, P., Oláh, T. and Farkas, G.L. /1978/:
Effect of "osmotic stress" on protein and nucleic acid synthesis in isolated tobacco protoplasts.
Planta, 141: 33-36.
15. Ruzicska, P., Mettrie, R., Dorokhov, Y.L., Premecz, G., Oláh, T. and Farkas, G.L. /1979/:
Polyribosomes in protoplasts isolated from tobacco leaves.
Planta, 145: 199-203.
16. Borbély, G., Kölcsei, M. and Farkas, G.L. /1976/:
The postmaturational cleavage of 23 S ribosomal RNA in Anacystis nidulans is inhibited by infection with cyanophage AS-1.
Mol. Biol. Rep., 3: 139-142.
17. Cséke, Cs. and Farkas, G.L. /1979/:
Effect of light on the attachment of cyanophage AS-1 to Anacystis nidulans.
J. Bacteriol., 137: 667-669.
18. Lehmann, J., Völkl, W., Udvardy, J., Borbély, G., Sivók, B. and Farkas, G.L. /1979/:
Characterization of a ribonuclease from Anacystis nidulans infected with cyanophage AS-1.
Phytochemistry, 18: 541-544.

19. Borbély, G., Kari, Cs., Gulyás, A. and Farkas, G.L. /1980/:
Bacteriophage infection interferes with guanosine 3'-diphosphate-5'-diphosphate accumulation induced by energy and nitrogen starvation in the cyanobacterium *Anacystis nidulans*.
J. Bacteriol., 144: 859-864.
20. Friga, G.M., Borbély, G. and Farkas, G.L. /1981/:
Accumulation of guanosine tetraphosphate /ppGpp/ under nitrogen starvation in *Anacystis nidulans*, a cyanobacterium.
Arch. Microbiol., 129: 341-343.
21. Balogh, A., Borbély, G., Cséke, Cs., Udvardy, J. and Farkas, G.L. /1979/:
Virus infection affects the molecular properties and activity of glucose-6-P-dehydrogenase in *Anacystis nidulans*, a cyanobacterium.
FEBS Lett., 105: 158-162.
22. Cséke, Cs., Balogh, Á. and Farkas, G.L. /1981/:
Redox modulation of glucose-6-P-dehydrogenase in *Anacystis nidulans* and its "uncoupling" by phage infection.
FEBS Lett., 126: 85-88.
23. Godeh, M., Udvardy, J. and Farkas, G.L. /1981/:
Redox modulation of a phosphatase from *Anacystis nidulans*.
Planta, 152: 408-414.
24. Friga, G.M. and Farkas, G.L. /1981/:
Isolation and properties of an isocitrate dehydrogenase from *Anacystis nidulans*.
Arch. Microbiol., 129: 331-334.
25. Udvardy, J., Godeh, M.M. and Farkas, G.L. /1982/:
Regulatory properties of a fructose 1,6-bisphosphatase from the cyanobacterium *Anacystis nidulans*.
J. Bacteriol., 151: 203-208.
26. Udvardy, J., Balogh, Á. and Farkas, G.L. /1982/:
Modulation of glyceraldehyde-3phosphate dehydrogenase in *Anacystis nidulans* by glutathione.
Arch. Microbiol., 133: 2-5.
27. Udvardy, J., Juhász, A. and Farkas, G.L. /1983/:
Interaction between hysteretic regulation and redox modulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase from *A. nidulans*.
FEBS Lett., 152: 97-100.
28. Udvardy, J., Borbély, G., Juhász, A. and Farkas, G.L. /1984/:
Thioredoxins and the redox modulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase in *Anabaena* sp. strain PCC 7120 vegetative cells and heterocysts.
J. Bacteriol., 157: 681-683.

29. Udvardy, J., Borbély, G., Juhász, A. and Farkas, G.L. /1984/:
Fe³⁺-chelates mediate the oxidative modulation of cyano-
bacterial and chloroplast enzymes.
FEBS Lett., 172: 11-16.
30. Juhász, A., Csizmadia, V., Borbély, G., Udvardy, J. and
Farkas, G.L. /1986/:
The pyridine nucleotide-dependent D-glucose dehydrogenase
of Nostoc sp. strain Mac, a cyanobacterium, is subject to
thioredoxin modulation.
FEBS Lett., 194: 121-125.
31. Farkas, G.L. /1978/:
Senescence and Plant Disease. In: Plant Disease. Vol. III.
/Eds. Horsfall, J.G. and Cowling, E.B./
Academic Press, New York, pp. 391-412.
32. Farkas, G.L. /1982/:
Ribonucleases and Ribonucleic Acid Breakdown. In:
Encyclopedia of Plant Physiology, New Series. Vol. 14B.
/Eds. Parthier, B. and Boulter, D./
Springer Verlag, Berlin, pp. 224-262.

**IBC Technical
Services Limited**

Bath House (3rd Floor)
56 Holborn Viaduct
London EC1A 2EX
Telephone: 01-236 4080
Cables: Investprop London EC1
Telex: 888870

NEWS RELEASE

THE CAMBRIDGE SERIES ON BIOTECHNOLOGY

INTRODUCES AN

INTERNATIONAL CONFERENCE ON ENZYME ENGINEERING

25TH/26TH SEPTEMBER 1986

CHURCHILL COLLEGE, CAMBRIDGE

THIRD EUROPEAN SEMINAR & EXHIBITION ON

COMPUTER-AIDED MOLECULAR DESIGN

16TH/17TH OCTOBER, 1986, FORUM HOTEL, LONDON



AN INTERNATIONAL CONFERENCE ON

LYMPHOKINES AND OTHER MEDIATORS IN

INFLAMMATORY DISEASES

ENQUIRIES: Miss Fiona Spindlove
IBC Technical Services Ltd.
Bath House (3rd Floor)
56 Holborn Viaduct
London EC1A 2EX.

Telephone 01-236 4080

Tlx: 888870

27TH/28TH NOVEMBER 1986

ROYAL LANCASTER HOTEL, LONDON

„ÍGY SZERKESZTETEK TI”..

avagy

hogyan fordítottam (háta) a „TUDOMÁNY”-nak

A **TUDOMÁNY**
 • SCIENTIFIC
 AMERICAN magyar kiadás

megtisztelő felkérésére a januári szám részére egy szakmámhoz szorosan kapcsolódó témájú cikket fordítottam. Amikor a kéziratot leadtam, az ahhoz mellékelte levélben a szerkesztőket arra kértem, hogy

az esetleges javításokat, változtatásokat láthassam, saját bizonytalanságaimat korrigálhassam. Bár e segítség felajánlásával többször is próbálkoztam, végül is csak az újságárus standján találkoztam a már megjelent cikkel, amely zsúfolásig telve volt szakmai és nyomdai bakikkal. Bánatos levelet írtam a főszerkesztőnek, amelyben 4 oldalon 25 (!) pontban gyűjtöttem össze a félrefordításokat, erőszakolt, vagy szerintem hibás magyarításokat és a rengeteg értelemzavaró nyomdai hibát, köztük pl. egy ábra jelöléseinek kimaradását. Mivel az együttműködés teljes hiányát éreztem, leveletem azzal zárta, hogy amennyiben ez a szerkesztői politika érvényben marad, a lap részére többet munkát nem vállalok és kollégáimat is erre biztatom.

Kisvártatva levél érkezett a „TUDOMÁNY”-tól, amelyben a szerkesztők először is kiokosítottak, hogy „a fordítás nem alkotó jellegű szellemi tevékenység, hanem bér munka”, és „ha minden fordítást utólag megbeszelnénk a fordítóval, akkor évkönyvet kellene szerkesztenünk és nem havi lapot, nem beszélve az erre fordított rengeteg energiáról.” A hibákra vonatkozóan az „emberek vagyunk” általános választ adták, majd pontonként válaszoltak kifogásaimra. Néhány sajátos magyarítást kivont szablyával megvédtek, de a legtöbb esetben a válasz ilyesmi volt: „sajtóhiba”, „kihagytuk”, „lehet”, „nyomdai hiba”, stb.. Az egyik szakmai jellegű válasz, amely szerint a „feszültséggradiens és a feszültség esés szinonimák” - már középiskolás fizikaórán sem lenne díjazott felelet. Amikor a magyar szaknyelv hagyományaitól való eltérést - pl. a SZENTGYÖRGYI-KREBS ciklus Krebs-esítését - vagy szakmai pontatlanságot kifogásoltam, akkor a szöveghűséghez való ragaszkodást hozták fel érvként, ugyanakkor az eredeti cikk egy táblázatát egyszerűen kihagyták.

A legizgalmasabb mégis a válasz vége volt, amelyet szó szerint idézek: „...mi sem kívánunk Önnek több fordítást adni, mert rengeteg időt vesz igénybe a hibák kijavítása... Egyébként amennyiben kollégái is hasonló szinten fordítanak, akkor jelzett agitációs tevékenységével is csak a mi munkánkat könnyíti. (Egyébként amióta sorozatban olvasom és javítom magukat kiváló szakembereknek és angol tudásúnak tartó emberek durva szakmai hibáktól hemzsegő kézíratait, azóta értem, miért olyan rossz az egész hazai tudományos és műszaki könyvkiadás.”)

Én teljes szívből megértem a tisztelt szerkesztő urat, hogy sem kedvük, sem idejük az őket nyagगतó szakmai fordítókkal foglalkozni, hogy megvetik primitív angolságukat (közben

hadd mentegessem magam avval, hogy a megbízást csak sikeres próba-
fordítás után nyertem el és előzőleg két és félévet töltöttem an-
gol nyelvterületen, mint vendég-professzor), de hát miért is szer-
kesztenek akkor pont tudományos folyóiratot ? Miért vállalták an-
nak nyűgét, hogy a legfrissebb tudományos eredményeket szakszerű-
en és jól népszerűsítő Scientific American magyar változatában egy-
ben szaknyelvünk apostolai is legyenek ? Ha már nem tudják megfe-
lelően kiszűrni a sajtóhibákat, miért nem fogadják el a fordító ez-
irányú segítő ajánlatát ? Mindezek alapján továbbra is úgy érzem,
hogy talán mégsem a sete-suta kutató fordítók, hanem éppen a kuta-
tó-riasztó szerkesztő urak a hazai tudományos népszerűsítés leg-
főbb kerékkötői.

Sarkadi Balázs



**3rd INTERNATIONAL COURSE
on PHYSIOLOGICAL BIOCHEMISTRY
of EXERCISE and TRAINING**

**14 OCTOBER 1986
"ZAPPION PALACE"
ATHENS - GREECE**

Sponsored by the Ministry of Culture - Under Secretariat of Sports
Organized by the Research Group on Biochemistry of Exercise
at UNESCO and the Hellenic Sports Research Institute

Secretary General ICBET

Dr. Alexander Tsopanakis - Hellenic Sports Research Institute
Olympic Sports Center of Athens
37 Kifissias Ave., Maroussi GR - 151 53, Athens - Greece Tel.: (01) 6834060, Telex: (21) 0245 OLST GR.

Technical Secretariat

George Doxas & Partners LTD
23, P. Zervou str., P. Psychico GR - 15452 Athens - Greece Tel.: (01) 6719197 - 6712593 - 6529912 - Telex: 222330 G.T.D. GR.

**FIFTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM
ON
THE GENETICS OF INDUSTRIAL MICROORGANISMS**

**SPLIT, 14.-20. SEPT., 1986.
YUGOSLAVIA**

The Secretariat

MARIJA ALAČEVIĆ

Chairperson of the
Organizing Committee
Faculty of Food and Biotechnology
Laboratory of Biology and
Microbial Genetics

Kršnjavoga 25
41000 ZAGREB
Yugoslavia
Phone: (041) 417-044

Pre-Clinical and Clinical Biochemistry?

A T D GONDWE

*Department of Physiological Sciences
School of Medicine
University of Zambia
Lusaka, Zambia*

Introduction

Biochemistry is now generally accepted as an essential component of any Medical School curriculum, because medicine is becoming more and more dependent upon biochemistry as a discipline. Typically, a medical student takes biochemistry as one of the pre-clinical subjects, along with Anatomy and Physiology. Once he has qualified for the clinical part of the course, the student has little, if any, formal contact with biochemistry thereafter.

Conclusions

Our basic problem, then, is how to teach biochemistry to our undergraduate medical students in such a way that the knowledge of the subject imparted to them will serve the students in their clinical years as a tool for solving clinical problems. Our friends at Monash University are apparently faced with the same problem.² It is felt that offering all biochemistry in the preclinical year is unsatisfactory, because, first, the students have difficulty in perceiving the relevance of the subject to clinical medicine, having had no clinical exposure yet, and, second, by the time they are required to apply their biochemical knowledge to a clinical situation, most of our students do not remember any biochemistry worth talking about. It is recognised that basic Biochemistry ought to come early in the college career of a medical student, but it is felt that if the more applied aspects of the subject were offered in one of the clinical years, it would enable the students to maintain contact with the subject when they need it most. We would like to experiment with offering a basic course in the pre-clinical year, to be followed by a more applied one during one of the clinical years, parallel with clinical subjects. It is hoped that such a programme would enable the students to appreciate biochemistry better as a basic medical science, and that the subject would so stick in their minds that, even four years after graduation, they would still be able to give a logical explanation of the use of methotrexate as an anti-tumour agent.

References

- ¹ Mehler, A H (1983) *Biochem Educ* 11, 95-118
- ² Shaw, P L G (1984) *Biochem Educ* 12, 39-41

Teaching Clinical Biochemistry to Medical Students: Facts or Concepts?

P GARCIA-WEBB

*Department of Clinical Biochemistry
University of Western Australia
Nedlands, WA 6009 Australia*

Introduction

In a recent paper, Fraser and Shanley reported the results of a survey that studied the teaching of clinical biochemistry to Australian medical students.¹ In their view the teaching was unsatisfactory. The study raises a number of questions: what are the aims and goals of the teaching of clinical biochemistry to medical students? When in the course should it be taught, and by whom? Should the teaching be more concerned with facts or attitudes? Should it be examined? The aim of this essay is to consider these questions. It is not expected that the views expressed here should be considered as dogma; rather it is hoped they will stimulate further discussion.

Clinical Biochemistry

At least some of the difficulty in deciding how the subject should be taught stems from the fact that clinical biochemistry is frequently perceived not to be an independent academic discipline. Thus of the ten medical schools in Australia, only one has a full university department solely concerned with clinical biochemistry. The department at the University of Western Australia was established in 1976, perhaps more on the strength of personalities than on the strength of academic debate. A second department, located in South Australia is concerned with clinical biochemistry but also carries the responsibility for the teaching of biochemistry to medical students.

In other countries although there may be more Professors of Clinical Biochemistry, the academic status of the discipline seems to be no more definite. A recent meeting of some heads of departments in England debated the motion that clinical biochemistry was not an academic discipline. The motion was lost by only 9 votes to 8. At least one professor later admitted to have voted against the motion more because he was a professor of clinical biochemistry than because he was convinced by the arguments put by the speakers.

Table 1 Outline of a Clinical Biochemistry Course

Concepts
Laboratory reproducibility and accuracy
Theory of reference values
Discriminatory values of tests
Endogenous and exogenous interference
Limitations of screening
Biological variation in health and disease
Logical pathology investigations
Interpretation of results

In Australian medical schools clinical biochemistry is mainly perceived as a service laboratory. It is a department to which samples are sent and from which results are expected. That the results should be accompanied by reasoned comment or advice is not thought necessary. These service departments are funded through hospitals by State Departments of Health. Even in Western Australia, less than 0.5% of the salaries of the academic members of the university department derive from university funds. As a result, research is not actively encouraged. Without the corner stone of research it is not surprising that clinical biochemistry is not considered to be an academic discipline.

Such background information perhaps explains why there is no formal clinical biochemistry course in the majority of Australian medical schools. Is clinical biochemistry taught at all? To answer that it is necessary first to define clinical biochemistry.

Clinical biochemistry may be defined in a number of ways. To some, it is the application of biochemistry to medicine. To others, it is the chemical measurement of quantities in samples of body fluids to provide data of possible use in the diagnosis and management of patients. To others, it involves advice on and interpretation of the biochemical investigation of disease. From these definitions it is clear that the subject requires knowledge of biochemistry and medicine. The practical knowledge required in the laboratory is not of significance to the medical undergraduate.

It thus becomes apparent that aspects of clinical biochemistry are taught by a variety of staff during the student's career. Biochemistry is taught early in the course; the topic nowadays includes considerable clinical relevance and, therefore, aspects of clinical biochemistry. The use of investigations for diagnosis and patient management is taught throughout the clinical years by physicians, surgeons, endocrinologists, paediatricians etc. Even in medical schools where there is a formal clinical biochemistry course taught by clinical biochemists, over 95% of the students' factual knowledge of the subject is gleaned from outside that course. Indeed, given the small number of contact hours in the formal clinical biochemistry course, it is inevitable that the vast majority of factual knowledge will be acquired from other sources. That being the case, is there a need for a formal clinical biochemistry course at all? The answer, in the writer's view is yes; but the teaching required is of attitudes and concepts, not facts.

Laboratory investigations

The major criticism levelled at young doctors today is not that they do not know clinical biochemistry facts. Instead the criticism is that clinical biochemistry is used too much. For example laboratory investigations in England still seems to be increasing at 10–17% per year,² due both to an increase in patients investigated and an increase in investigations per patient.³ The students have clearly learned that biochemistry can be applied to medicine and

that the analysis of samples of body fluids might assist in patient diagnosis and management. What they have not acquired is the ability to discriminate tests of true relevance to the clinical problem from those which are largely superfluous. They have not grasped an understanding of the real usefulness and real limitations of laboratory investigation.

There are many reasons for this, ranging from a lack of understanding of the non-specificity of the majority of clinical biochemistry tests, to a prevalent attitude that a patient is not jaundiced until or even unless a numerical value can be put against the plasma concentration of bilirubin. It is in this sense then that the teaching of clinical biochemistry is unsatisfactory.

Concepts

The true objective of a formal clinical biochemistry course is to teach an understanding of the role of the clinical biochemistry laboratory in health and disease. The students should fully understand the concepts listed in the accompanying table. It is not the purpose of this essay to specify lecture content in any detail, nor to comment on the particular teaching technique that might best be chosen. However, what is apparent from Table 1, is that the more traditional titles of clinical biochemistry lectures have disappeared. Such topics on liver function tests or the investigation of adrenal hypofunction are best left to the gastroenterologist and endocrinologist. Instead, as a result of the clinic biochemistry course the student should be aware that it is possible to logically deduce how best to investigate a patient: that a normal result might not eliminate the possibility of disease, nor might an abnormal result always indicate its presence: that the concentration of a substance varies both from individual to individual and within an individual, and that such biological variation is increased in disease: that many endogenous and exogenous substances and the patient's environment might profoundly effect the result: that clinical biochemistry results are as much in need of interpretation as the patients' symptoms and signs.

Such a course is best taught by clinical biochemists at the time of transition from pre-clinical to clinical subjects. Grand rounds, case conferences and the like occurring in the later years of the medical curriculum should provide the opportunity to reinforce these concepts.

Examining

Finally, should the course be examined? It is not easy to examine concepts and attitudes. Even at the moment clinical biochemistry is at best worth only a small percentage of marks in pathology. In the writer's view the course should not be examined. But what if the students do not attend? Perhaps the course will just have to be interesting.

References

- ¹ Fraser C G and Shanley B C (1984) *Biochemical Education*, 12, 83
- ² Editorial (1984) *Lancet* (i) 1278
- ³ Fleming P R and Silva J F (1981) *Health Trends*, 13, 46



Trends in Biochemical Sciences



Published by the INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY and ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.

TIBS — the second decade

With this issue, *TIBS* begins its second decade of publication, secure in the knowledge that it has become an established part of the scientific communication network. In fact, it clearly occupies a unique place; it created this format and now is a model for several *TIBS*-type journals, both in related areas as well as other disciplines.

The success of *TIBS* is neither difficult to understand nor to trace. As detailed in his article in this issue that outlines the early history of the journal, Bill Whelan and the Elsevier Publishing Company independently conceived of a 'newspaper' style magazine that would contain both serious articles (in the form of reviews) and more personal features including forums for the discussion of various views and ideas. Perhaps the most remarkable event was that these parties, IUB (represented by Bill) and Elsevier, came together leading to the founding of the journal. As both Bill and Joan Morgan, the first staff editor of *TIBS*, describe, the early days were anything but smooth sailing. I remember well the anguish and the pressure created by a lack of material and rapidly approaching deadlines. As part of the founding Editorial Board, I received my share of gentle but firm arm-twisting from both Bill and Joan that was really as much as anything responsible for the ultimate successes.

If Bill and Joan were an effective team during the launching phase of *TIBS*, John Tooze, who succeeded Bill Whelan as Editor in Chief after the first three years of operation, and Steve Prentis, who ultimately filled Joan Morgan's post, formed an equally effective partnership during the phase when the journal matured. Bill and Joan can be

credited with laying the foundation; John and Steve erected the very stable house that now exists. In August 1984, Judith Hall took over as the in-house editor of *TIBS*, with Steve as Managing Editor, and it was with great regret that I learned just prior to press time that Steve Prentis will soon leave *TIBS* for another publishing venture. He will be sorely missed and will transfer to Judith Hall and I new challenges for maintaining the *TIBS* tradition.

Another very important component in the development of *TIBS* has been the panel of editors who have served the journal with a special sort of dedication. Some two-dozen scientists, past and present, have been members of the Editorial Board and this issue contains a representative sampling of their views, some scientific and some more political, that in my opinion illustrates the depth of scientific acumen that has characterized this group. Appropriately there has been a broad distribution of both interest and nationality. Some have served relatively short terms while others have been associated with *TIBS* for many years (including myself, who has remained associated with the journal throughout its existence). All the Board members have brought many things to *TIBS* but the most important has been the maintenance of high standards and quality throughout its pages. Unlike most other journals which receive the majority of their material in unsolicited contributions, *TIBS* depends upon its Editorial Board to generate most of its scientific content. One of the main responsibilities of the Editor in Chief clearly must be to maintain a lively and viable interaction with the Editorial Board and to ensure, as openings periodically occur, that they are filled with the same dedicated individuals that have characterized the first ten years of operation.

What then can one expect from *TIBS* in the next ten years? First and foremost, we will strive to maintain what *TIBS* has already become — a publication of outstanding class. *TIBS* will continue to report exciting scientific developments in biochemistry and molecular biology in terms of both reviews and short reports (journal clubs and the like). As mentioned in the article of John Tooze, from whom I am receiving the baton, *TIBS* must actively maintain its birthright of publishing interesting

results in all areas of the biochemical sciences. Put another way, it must resist encroachment from other journals, including its stablemates, in order to provide its readership with the broad spectrum of findings that it has come to expect. We will do this. *TIBS* will also continue to be a forum for various germane discussions, as it has in the past, and I encourage all readers of *TIBS* to submit their views and/or suggestions in this regard. Finally, *TIBS* will continue its more personal approach to science. It has pioneered the use of non-traditional material, e.g. cartoons, to highlight in a very human fashion its serious material, and has noted the comings and goings of biochemical scientists around the world when information was available. Surprisingly, it has not been easy to obtain such information; we therefore invite individuals and organizations to inform us about such 'comings and goings' — appointments, awards, etc.

Thus, the next decade of *TIBS* promises not only innovation, as with the new look to our historical feature, but also a continuing diverse but balanced presentation of a variety of material of interest to the biochemical community. I personally stayed with *TIBS* for the first decade of its existence because I believe that it provided an important service for devotees of the field, ranging from undergraduate students just becoming interested in biochemistry to senior scientists with long established track records. I also stayed with *TIBS* because it was fun. I fully expect it will continue to do both things for me.

RALPH A. BRADSHAW
Editor in Chief

Department of Biological Chemistry,
University of California,
Irvine, CA 92717, USA.

HÍREK és ESEMÉNYEK

VEZETŐSÉGVÁLASZTÓ KÜLDÖTTKÖZGYŰLÉST TARTOTT MÁJUS 13-án EGYESÜLETÜNK

A küldöttek - a szakosztályok vezetői és választott képviselői, a jogi tag vállalatok képviselői és a leköszönő elnökség tagjai - titkos szavazással választották meg Egyesületünk új elnökét és főtitkárát, továbbá az új elnökség, az ellenőrző bizottság, az etikai bizottság és a tanácsadó bizottság tagjait. A választás eredménye alapján Egyesületünk új tisztségviselői a következők :

Elnök : Dénes Géza

Főtitkár : Hidvégi Egon

Az elnökség tagjai :

Antoni Ferenc	Huszti Zsuzsa
Ádám Vera	Kis Antal
Bajszár György	Kiss Béla
Barabás György	Kondorosi Ádám
Dénes Géza	Kovács Gábor
Dux László	Kremmer Tibor
Elődi Pál	Lengyel Zoltán
Faragó Anna	Machovich Raymund
Ferencz Antal	Mandl József
Fésüs László	Molnár János
Financsek István	Nyeste László
Friedrich Péter	Polgár László
Gaál József	Sarkadi Balázs
Gergely Pál	Sík Tibor
Gráf László	Szabó Dénes
Halász Anna	Szentirmay Attila
Hidvégi Egon	Tyihák Ernő
Jeney András	Venetianer Pál
	Vereczkey László

Az Ellenőrző Bizottság elnöke : Novák Ervin
tagjai : Boross László és Sohár István

Az Etikai Bizottság elnöke : Tigyi András
tagjai : Muszbek László és Udvardy Éva

Az elnökség mellett működő Tanácsadó Bizottság tagjai :

Alkonyi István	Gárdos György
Bagdy Dániel	Guba Ferenc
Banga Ilona	Horváth István
Biacs Péter	Kralovánszky Pál
Bihari István	Straub F. Brunó
Bíró Endre	Szabolcsi Gertrud
Bot György	Lásztity Radomir
Wollemann Mária	

A küldöttközgyűlésen elhangzott főtitkári beszámolót, továbbá az új elnökség alakuló ülésének eseményeit a következő számunkban ismertetjük.

18th FEBS Meeting

LJUBLJANA - YUGOSLAVIA

June 28 - July 3, 1987

Organized by the Union of the Biochemical Societies of Yugoslavia

Scientific Programme

The scientific programme will include Symposia with invited speakers, Poster Sessions and Colloquia. The Symposia will cover the following topics (preliminary):

1. Genome Organization
2. Gene Expression
3. Immunochemistry
4. Structure and Function of Proteins and Peptides
5. Enzymology
6. Bioenergetics

7. Biomembranes
8. Growth and Differentiation of Cells
9. Simple and Complex Lipids
10. Neurobiochemistry
11. Hormones
12. Metabolism Regulation
13. Biotechnology
14. Biochemistry of Viruses
15. Plant Biochemistry
16. Medical Biochemistry

The First Announcement will be distributed in September 1985.

Further information:

Secretariat of the 18th FEBS Meeting
J. Stefan Institute
Department of Biochemistry
61000 Ljubljana
Yugoslavia
Tel. (061) 214-399

**FEBS
INTERNATIONAL SUMMER SCHOOL
ON
IMMUNOLOGY**

**September 15 - 24, 1986, Ionian Village,
West Coast of Peloponese, Greece**

**The Immune System: Genes,
Receptors and Regulation**

Egyesületünk GYÓGYSZERBIOKÉMIAI SZAKOSZTÁLYA április 28-30 között tartotta

„Kalcium háztartás - kalcium-antagonisták,”

korszerű irányzatok a gyógyszerkutatásban című konferenciáját. A találkozóra mintegy 100 kutató jött el, közel 30 különböző kutatóhelyről. A rendezvény célja egyfelől az volt, hogy a témát egyszerre közelítse meg biokémiai, farmakológiai és klinikai oldalról, másfelől pedig alkalmat adjon a kutatóintézeti, egyetemi tanszéki és gyári kutató szakemberek véleménycseréjére. A konferencia színvonala igen magas volt, a résztvevők között négy akadémikus is jelen volt s közülük kettő, Dénes Géza és Damjanovich Sándor nagyszerű előadást tartott.

Úgy gondoljuk, hogy az ilyen típusú konferenciákra, t. i. azonos terület interdiszciplináris megközelítésére nagy szükség van. A különböző területeken dolgozó szakemberek így közvetlen lehetőséget kapnak egymás munkájának, problémáinak és eredményeinek megismerésére. Ezen a találkozón csak az jelentett problémát, hogy a szoros program kevés időt engedett a megbeszélésekre és vitákra. Reméljük, hogy a jövőben ezt el tudjuk majd kerülni. A konferencia sikeréhez nagy mértékben hozzájárult az ideális környezet: a Minisztertanács balatonszemesei Központi Üdülője mind technikai, mind üdülési szempontból a legmegfelelőbb volt.

Kovács Gábor
a Gyógyszerbiokémiai Szakosztály
elnöke

Biochemical Separation Methods

International
Summer School
August 11-15 1986
Uppsala, Sweden

Travel: Uppsala is 35 km from Stockholm International Airport - Arlanda - and is connected by airport bus, and taxi.

Language: The International Summer School will be held in English.

Location of the International Summer School: Biomedical Center
University of Uppsala
Sweden

All Correspondance: Iréne Aspman
Pharmacia
Biotechnology International AB
S-751 82 UPPSALA
Sweden



Pharmacia

Biotechnology International
S-751 82 Uppsala, Sweden

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE I

Laboratoire de Chimie Biologique

Unité Associée au C.N.R.S. n° 217



FEBS ADVANCED COURSE ON GLYCOCONJUGATES

The Laboratory of Biological Chemistry (Laboratoire Associé au C.N.R.S. n° 217) of the Université des Sciences et Techniques de Lille organizes in September 1986 a FEBS Advanced Course on the Methodology of the Structure, Metabolism and Molecular Biology of Glycoconjugates with the participation of H. EGGE, F. HEMMING, C. HUGUES, R.W. JEANLOZ, M. MONSIGNY, H. SCHACHTER, R. SCHAUER, N. SHARON, J.F.G. VLIEGENTHART and of the scientific staff of the Lab.

The number of participants is limited to 25. Teaching will consist of general lectures, round tables and mainly practical works on the following topics :

- Preparation and fractionation of glycolipids, glycoproteins, glycopeptides and glycans.
- HPLC of sugars and derivatives.
- Determination of glycan-peptide linkage (β -elimination and hydrazinolysis).
- Colorimetric, chromatographic and electrophoretic determination of neutral sugars, hexosamines, uronic acids, sialic acids.
- Glycosidases (exo- and endoglycosidases) : isolation, activity determination, application to the study of the structure of glycoconjugates.
- Permethylation and identification of methylated sugars.
- High resolution-NMR and mass-spectrometry of sugars and derivatives.
- Biomembranes : isolation, membrane enzymes and glycoconjugates, receptors.
- Membrane lectins.
- Lectins.
- Biosynthesis and catabolism of glycoconjugates. Lipid intermediates.

Dates : 8 to 20th of September 1986. Application deadline : 1st May 1986.
Course fee : FF 3,500 (including meals and accommodation). Students may apply to the FEBS Travel Fund to cover the cost of their travel and for accommodation and subsistence.

Further informations : J. MONTREUIL, Université des Sciences et Techniques de Lille, Laboratoire de Chimie Biologique, 59655 - Villeneuve d'Ascq Cedex (France).

Phone : 20.43.48.84