

BIOKÉMIA

1972. X. 1.

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,
Sarkadi Balázs, Solymosy Ferenc, Szász Ilma
Felelős szerkesztő : Bagdy Dániel
Technikai szerkesztő : Bagdy Erzsébet

A tartalomból :

Szent-Györgyi öröksége
A gliadinok genetikája
Gliadinok a technológusok szemével
A nagy molekulatömegű gliadin-alegységek lipid-komplexei és
szerepük a sütőipari minőség kialakításában
Lisztbetegség és a gliadinok
Terhességi és placentáris fehérjék
Tanulmányúton a Harvard Orvosegyetem Sejtbiológiai Tanszékén
Beszámoló a nemzetközi tudományos találkozóról
FEBS-kongresszus Nyugat-Berlinben
Rák-Világkongresszus Budapesten
FEBS nyári iskola Kolozsvárott

Contents

Szent-Györgyi's heritage
Genetics of gliadins
Gliadins from the technologist's point of view
Lipid complexes of gliadin subunits
Gliadins and the flous disease
Pregnancy and placental proteins
A study-tour at the Dept. of Cell Biology, Harvard Medical School
Reports on international scientific meetings
17th FEBS-Meeting, Berlin-West
14th International Cancer Congress, Budapest
FEBS Summer School on Biomembranes, Kolozsvár
Obituaries

E számunk szerzői :

BÉKÉS Ferenc, BME Biokémiai és Élelmiszerteknológiai Tanszék,
Emberné, KÁRPÁTI Mária BME Biokémiai és Élelmiszerteknológiai Tanszék,
FALUS András Országos Reuma- és Fizioaterápiás Intézet, HORVÁTH
Károly SOTE I. Kémiai-Biokémiai Intézete, HIDVÉGI Egon Országos
F.J.C. Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Intézet (OSSKI), FINANCSEK Ist-
ván OSSKI, HOLLAND József OSSKI. KELLERMAYER Miklós POTE Bio-
fizikai Intézete, LASZTITY Radomir BME Biokémiai és Élelmiszert-
eknológiai Tanszék, MINÁROVITS János Országos Közegészségügyi
Intézet Mikrobiológiai osztálya, MOSONYI Ágota Malomipari Kutat-
tóintézet, H. NAGY Anna ELTE Genetikai Intézet, ŐRSI Ferenc BME
Biokémiai és Élelmiszerteknológiai Tanszék, PRAJDA Noémi Ország-
os Onkológiai Intézet, SCHMIED István BME Biokémiai és Élelmiszert-
eknológiai Tanszék, STAUB Mária SOTE I. Kémiai-Biokémiai Intézet, SZABÓ
Dénes POTE Biokémiai Intézet, VINCZE János Kolozsvár, BAGDY Dániel
Gyógyszerkutató Intézet KV.

SZENT-GYÖRGYI ÖRÖKSÉGE

A Nobel-díjasok, a tudomány kimagasló egyéniségei munkásságukkal az egész világ haladását szolgálják. Felfedezéseik, alkotó munkájuk eredményei közvetlenül vagy közvetve az egész emberiségé. Szellemi erejük sugárzó hatása nem fejeződik be halálukkal. Életművük tovább él tanítványaikban, a nemzetközi tudományos világban, szellemi örökségüket nem korlátozzák országhatárok.

Szent-Györgyi Albertnek a Bulletin of the Atomic Scientists 1975 áprilisi számában közzétett kis katekizmusa, amelyben az élet lényegét felismerő bölcsességgel tárta fel aggodalmait az emberiség igaz békéjéért és jólétéért, minden emberhez szól. Csak néhány tételét idézzük fel emlékeztetőül :

„Nem igaz, hogy azért voltak mindig is háborúk, mert az ember vérszomjas. A háborúk mindig azért törtek ki, mert mindenkor voltak egyének vagy kis embercsoportok, akik készek voltak mások életét feláldozni saját profitjuk vagy törekvéseik érdekében.

Az élet a világot teremtő erőknek késői mellékterméke. Az élet eltörölhető anélkül, hogy a világegyetemben bármi zavar keletkeznék. Az emberi élet nem pusztítással, hanem alkotással tehető tartóssá. Élvezetessé az egészség, boldogság, szépség és tudás teheti.

A gazdagság a kiválóságból ered és nem a kiválóság a gazdagságból (Platon). Napjaink válsága morális és intellektuális, a gazdaságpolitika másodlagos.

A tudomány által átalakított világot csak az a szellem irányíthatja, amely a tudományt létrehozta : az igazságkeresés, a tények hideg fővel, félelemtől, kapzsiságtól és hatalomvágytól mentes számbavétele.

Az együttélés alaptörvénye : ne tégy másokkal olyat, amit magadnak nem kívánsz."

Szent-Györgyi Albert gazdag szellemi örökségének a biokémiai tudomány hazai munkásai számára - úgy gondolom - sajátosan magyar jelentősége is van. Szent-Györgyi szegedi és pesti iskolája meszsze előre mutató példa arra, hogy két vesztett világháború között és után is lehet a tudomány nemzetközi élvonalába törni és ott megmaradni. Példa Berzsenyi Dániel ódájának klasszikus gondolatára : „Nem sokaság, hanem lélek s szabad nép tesz csudadolgokat." Tehetség és elhivatottság a nagy célokra törő tudományos közösségek igazi összetartó ereje, s ezek semmi mással nem pótolhatók.

Az emberiség történelmének változó erősségű viharos szelei a jelenben és a jövőben is zavarhatják a tudományos munkások igazságkereső tevékenységét. Ha azonban úgy indulunk reggelenként munkába, ahogyan a hetvenhat éves Szent-Györgyi indult laboratóriumába, akkor már tudjuk, hogy az egyetlen dolog, amiért érdemes élni : az új tudás vagy az új szépségek megteremtése. Megértettük és elfogadtuk szellemi örökségét.

„A nagy szellemek dicsősége állandóan nő és nemcsak irántuk tanúsítanak tiszteletet, hanem kiemelik mindazt, ami valamiképpen az ő emlékezetükhöz tartozik." (Seneca leveleiből). (bd)

Science,
technology
and man

Nobel Prize- Winners' Round Table

Seated at a "Round Table" set up under the immense shell of reinforced concrete housing Unesco's Conference Hall, eight world-famous scientists, five of them Nobel Prize winners, took part in a succession of scientific and cultural events organized in November 1958 on the occasion of the inauguration of Unesco's new Headquarters and its Tenth General Conference. Vital questions arising from the impact of science and technology on human life were discussed by members of the Round Table. We present here significant passages from these debates.

John Boyd Orr (United Kingdom)
Nobel Peace Prize, 1949

IT is the advance of science, leading to technology and to the birth of new ideas, which has guided the full evolution of our civilization.

The problem of the present day, however, is that in our generation science has advanced at an accelerating rate. In the last fifty years science has advanced more than in the 2,000 previous years and in this advance has given man enormous new powers.

In the past, hunger and disease limited the growth of population. Today hunger can be abolished, disease is rapidly being defeated and we are undergoing an explosive rise in population. This is one of the problems we shall need to deal with. Thus, you see, the advance of science has driven us into an entirely new age—an age where war is impossible. That is the biggest revolution which has ever taken place since the beginning of civilization.

Can we adjust human society to these great changes? Some people think we cannot. I believe we can. But it depends upon whether the people of the world realize what it is we have to face up to, and make it possible for our governments to lead us to a new golden age.

John Boyd Orr

Bernardo Alberto Houssay (Argentina)
Nobel Prize for Physiology and Medicine,
1947

IT is a mistake to talk of pure and applied science. There are not two kinds of science but only one, and there are the applications of that science. The public in general and governments, too, think that only applied science is useful. They are very much mistaken. People should realize that all the knowledge on which applied science is based comes from theoretical or pure science. If theoretical or pure science is brought to a halt or loses its impetus, then application, too, becomes sluggish or stops. So we should make no distinction between these two aspects of science.

Pasteur said: "It is not the long and involved political discussions we may read about in the newspapers that help mankind to progress, but only the great discoveries of science, of human thought, and the uses to which they are put."

B. Houssay



Nikolai Semenov (USSR)
Nobel Prize for Chemistry, 1956

WHAT is the situation facing us today? Science has the means to bring happiness and contentment to the world. But should a new war break out (it would inevitably be an atomic one) then mankind would experience the most dreadful fate it has ever known.

Which road will humanity take? The decision rests with us, on our goodwill, our efforts and our determination. What we can and must do is to put an end, once and for all, to the testing of nuclear weapons. Though this is perhaps not the main problem it is of primary importance, for the first effect of prohibiting nuclear tests would be to prevent any further development of devastating nuclear weapons, and would help to re-establish international confidence.

This would do much to dispel the present worldwide fears and depression caused by the "cold war". It would hasten the next and most decisive action—a banning of the production and use of nuclear weapons, the destruction of all existing stocks of such weapons, general disarmament, and the renunciation of war as a means of settling international disputes.

N. Semenov

UNESCO The Courier

A window open on the world

May-June 1986

39th year

P.M.S. Blackett (United Kingdom)
Nobel Prize for Physics, 1948

IT is very important to realize that science, although it has achieved marvellous things, is not a magic wand to wave over a poor country and make it into a rich one. Science textbooks are cheap; it is reasonably cheap to train scientists; but it is extremely expensive to embody the science in the factories, the steel works, the transport systems, the power stations, the mines and the chemical plants. They all cost an enormous amount of capital, and the poor countries are very hard put to find capital. And that simple economic reason is why science is so very unevenly applied over the world today.

I agree that the most important thing for mankind is not to blow itself up. But I am, curiously, an optimist about this matter. ... And assuming that we won't blow ourselves up, what is the next main problem?

I think the next main problem is to do something about the widening gap between the rich and the poor parts of the world, the rich countries which have successfully used science and obtained all the benefits, and the poor ones which have not. Now, if we don't do something about this widening gap, in a few decades, if the standard of life in the West goes up at the present rate, we may end up with a large part of the world poverty-stricken, as for centuries past, while the advanced countries of the West are enjoying (if "enjoying" is the right term) what has been called a "five-day weekend".

Patrick Blackett

Daniel Bovet (Italy)
Nobel Prize for Physiology and
Medicine, 1957

WE must see to it that university teaching is not impoverished; that humanistic teaching is not impoverished. We must see to it that, where science is concerned, authority is not transferred from the university to politics. We must do everything to avoid the militarization of our endeavours and our culture.

The question of the degree of responsibility of the scientist, and particularly the physicist, for all our weapons, all our wars, has sometimes been raised. Let me take up his defence—a task which is easier for me as I am not a physicist.

Science is innocent of the crimes of which it is accused. The only guilty party is society—a society insufficiently permeated with the scientific spirit.

Daniel Bovet

A GLIADINOK GENETIKÁJA

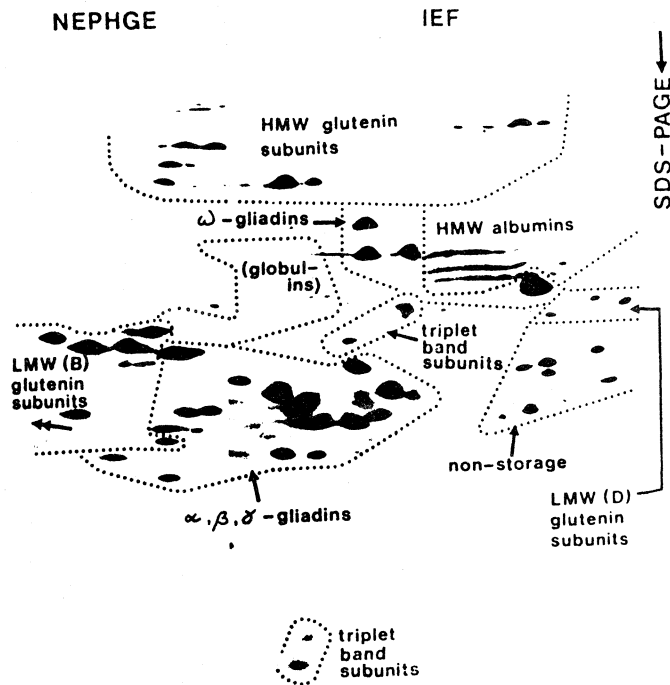
Az utóbbi évtized genetikai irodalmában igen nagy mértékben megnőtt azoknak a tanulmányoknak a száma, amelyek a magfehérjékkel foglalkoznak. Ez minden bizonnyal annak a következménye, hogy mind tudományos, mind gazdasági szempontból kiemelkedő jelentőségű produktumok. A kutatások gazdasági jelentőségéről elég csupán annyit említeni, hogy az emberi táplálékként felhasznált fehérjék többsége közvetlenül vagy közvetve a gabonafélék és hüvelyesek magjának tartalékfehérjéiből ered. A növénytermesztők és nemesítők számára tehát minden olyan tudományos eredmény alapvető fontosságú, amely e fehérjék produkciójának mennyiségi és minőségi szabályozására vonatkozik.

A magfehérjék az alap kutatás számára is több szempontból értékes biológiai anyagot képviselnek. Nagy mennyiségben kinyerhetők, tisztíthatók, mert a növény viszonylag nagy mennyiségben halmozza ezeket a komponenseket. Maguk a növényfajok mesterséges körülmények között is nevelhetők, így laboratoriumi vizsgálatok számára is kedvező objektumok. A fejlődő mag ugyanakkor kitűnő modellrendszer a növényi gének kifejeződésének tanulmányozására. A raktározott fehérjék génjei olyan típusú géncsoportot képviselnek, amelyek a növény életciklusának pontosan meghatározott szakaszában működnek és szabályozásuk sok vonatkozásban analógiát mutat az állatok hemoglobin vagy ovalbumin génműködésének szabályozásával. A génkifejeződésre ható endogén, élettani kontroll és a külső ingerek szerepe egyaránt jól tanulmányozható. A rekombináns DNS technikák alkalmazása tág teret nyert a magfehérjék génjei körében. Az eredmények a génműködés mennyiségi oldaláról éppúgy számottevőek, mint a szekvencia módosításaiból adódó lehetőségek.

A búza tartalékfehérjék nagy számú komponensből tevődnek össze, s ezek molekulaméretben, töltésben nagy változatosságot mutatnak és oldékonyságukban is jelentősen eltérnek. Nem egyensúlyi pH-grádiens elektroforézis (NEPHGE), valamint izoelektromos fókuszas és SDS poliakrilamid gélelektroforézis kombinálásával kapott polipeptid-kép alapján az összetevőkről az 1. ábra ad áttekintést (Payne és mtsai 1984).

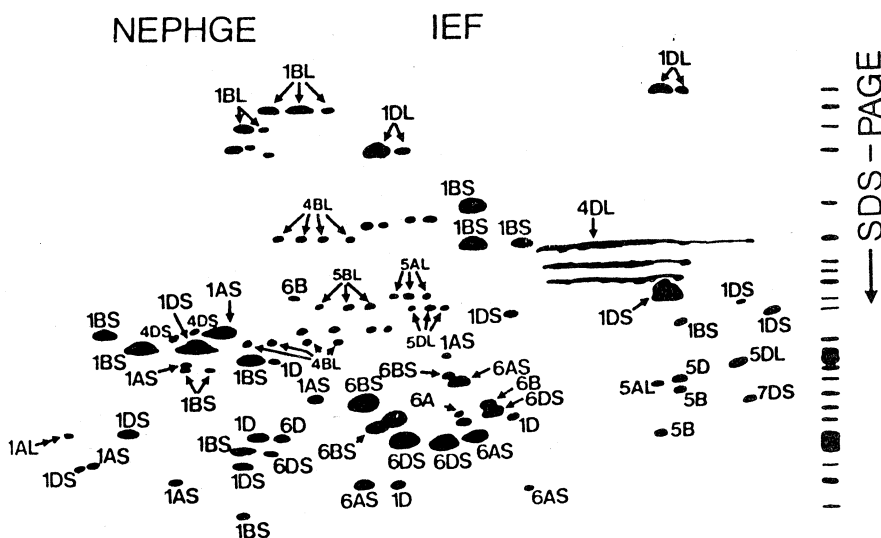
A prolaminok a búzában éppen úgy, mint a kukoricában és az árpában is a fő frakciót képezik, a szem fehérjetartalmának csaknem 90 %-át. Az ide tartozó két fő csoport a gliadinok és a gluteninek. E nagy mennyiségben előforduló endospermium specifikus fehérjék olyan protein-testekben halmozódnak fel, amelyek a csírafejlődés során veszítik el integritásukat. Mindkét csoport jellemzője a magas glutamin és prolintartalom.

A tartalékfehérjék közül a hliadinok lényegesen jobban ismertek, valószínűleg könnyebb kivonhatóságuk miatt. A ma ismert és elfogadott nevezéktan szerint a gliadinokat - alumínium-laktát elektroforézissel történő elválasztás alapján - α (vagy A), β , γ és ω gliadinokra osztják csökkenő mobilitásuk szerint. Az α , β és γ gliadinok 30 000-45 000 relatív molekulatömegű, kénben gazdag polipeptidek, az ω gliadinok alacsony kéntartalmú, 65 000-80 000 molekulatömegű komponensek. A hexaploid búza gliadinjait kétdimenziós gélelektroforézissel mintegy 45 polipeptid-kompo-



1. ábra A búza endospermium fehérjék frakciói kétdimenziós gélelektroforézissel szétválasztva (NEPHGE - nem egyensúlyi pH gradiens elektroforézis; JEF - izoelektromos fókuszálás; SDS-PAGE - SDS poliakrilamid gélelektroforézis) (Payne és mtsai 1984).

nensre bontották az említett csoportokon belül. A klasszikus genetikai analízisek eredményeit összefoglalva megállapították, hogy a búza tartalékfehérjéket kódoló gének 9 különböző lókuszban fordulnak elő a búza genomban. Ezekből a Gli-A1, Gli-B1 és Gli-D1 az ω , β gliadinokat kódolja és az 1A, 1B, 1D kromoszómák rövid karján térképezhetők. A Gli-A2, Gli-B2 és Gli-D2 az α és β gliadinok lókuszaival és a 6. kromoszóma rövid karján lokalizáltak. Mindegyik lókuszt több génből álló génekötegnek tekinthetők (2. ábra)



2. ábra A kétdimenziós gélelektroforézissel elválasztott fő komponensek génjeinek kromoszómális lokalizációja. (Payne és mtsai 1985).

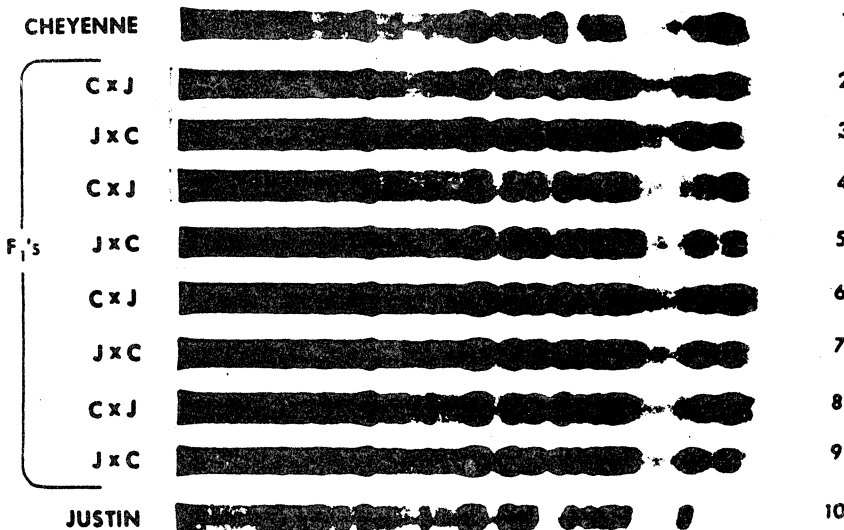
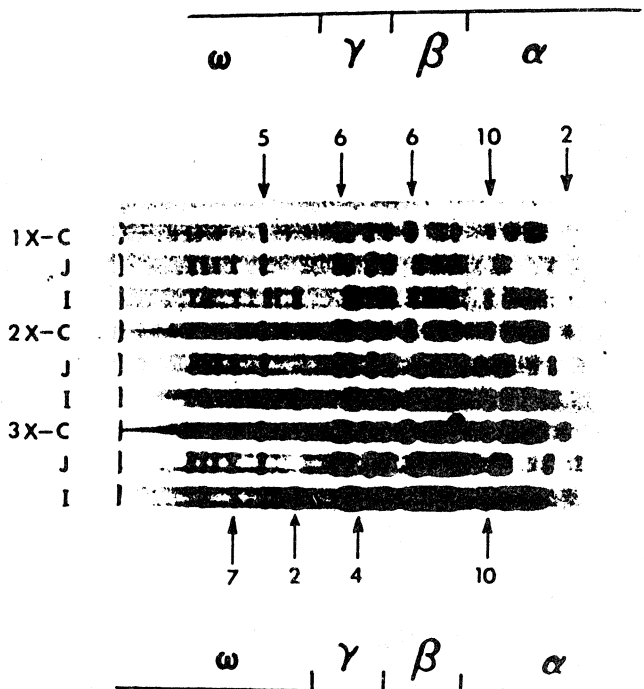
A génkomplexek működésére, annak szabályozására, a gliadin-típusok öröklésmenetére vonatkozólag Mecham és munkatársai alapvető munkát közöltek (1978). Jelentős különbséget kaptak három vizsgált fajta között az egydimenziós elektroferogramban is (3. ábra). Keresztezve egymással a változatokat, az F_1 magokban a szülői mintázatok additív képét (4. ábra), F_2 -ben pedig szabályos mendeli szegregációt kaptak (5. ábra). A gliadin változatok tehát éppen úgy, mint elektroforetikus mobilitásban polimorf enzim-strukturgének, kodomináns öröklésmenetet mutatnak. A kivételes eseteket a szerzők azzal magyarázták, hogy az alkalmazott módszer nem elég érzékeny ahhoz, hogy különbséget mutasson minden eltérő gén terméke között. A vizsgálat menetében sem recesszív jelleget, sem pedig alléldózisból adódó változatokat nem tudtak kimutatni. A nagyobb felbontású kétdimenziós elektroforézissel az α -gliadin-csoportban a génkomplex izolókuszai és az allélikus viszonyban levő változatok is megkülönböztethetők.

3. ábra

Búza gliadinok
egydimenziós
gél-elektroferogramja
(pH 3.2)

C - Cheyenne
J - Justin
I - INIA66R

Mecham és mtsai nyomán
(1978)



4. ábra

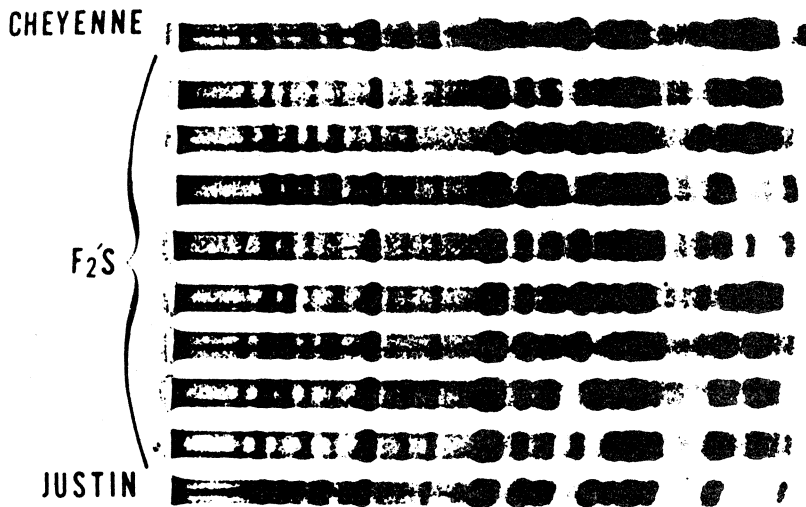
F_1 hibridek gliadin
elektroferogramja
(pH 3.5).

Justin - 10
Cheyenne-1 szülői
formák

CheyennexJustin F_1
2.4.6.8.

Justin x Cheyenne F_1
3.5.7.9.

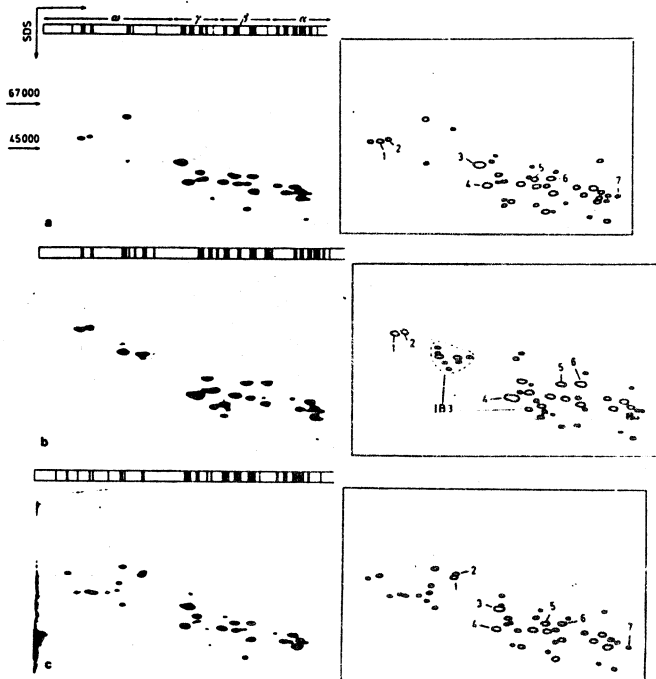
(Mecham és mtsai, 1978.)



5. ábra

F₂ magok gliadin elektroferogramja a szülői mintázatokkal összevetve (Mecham és mtsai, 1978).

Metakovsky és munkatársai (1984) alumínium-laktát és SDS elektroforézis kombinálásával az α és β régió komponenseit molekulaszúlyukkal is jellemezve választotta szét és tanulmányozta öröklődésmenetüket. Az α és β régió az egydimenziós elválasztáshoz képest lényegesen nagyobb számú komponenst eredményezett (6. ábra).



6. ábra

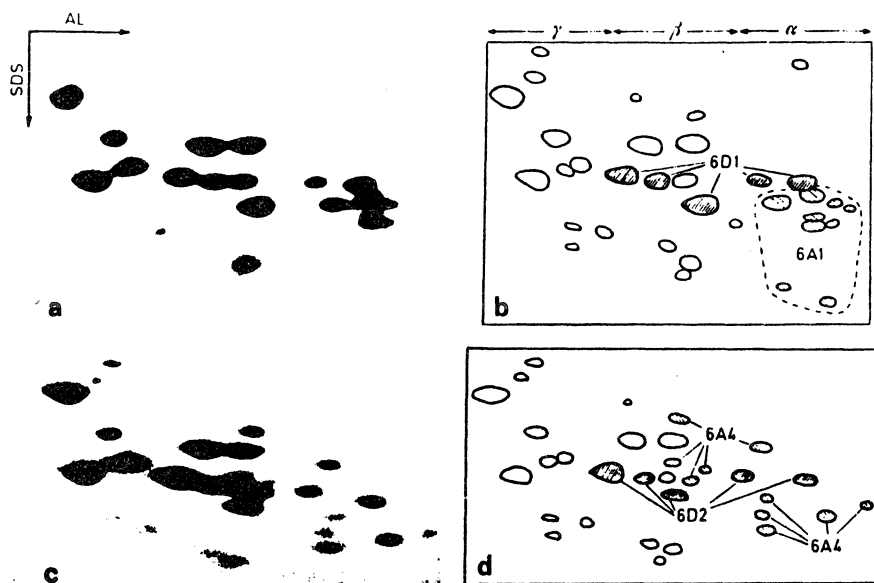
Búza változatok gliadinjainak kétdimenziós (alumínium-laktát - SDS) gélelektroferogramja.

- a : Bezostaya
- b : Kavkaz
- c : Rusalka.

(Metakovsky és mtsai, 1984).

(A számokkal jelölt komponensek értelmezése 1. szövegben).

Különbféle hibrid-kombinációk elemzéséből allélblokkokat és azok ismert fajtákban felismerhető variációit állították össze, de a gliadin kódoló lókuszek evolúciójára is vontak le következtetéseket. A kísérleti eredmények jól összeegyeztethetők azal a feltételezéssel, hogy a gliadin gének génduplikációs eredetűek. A duplikált lókuszek sorozatos mutációkkal önálló evolúciós úton elkülönültek és kialakult a ma felismerhető polimorfizmus. Ezzel magyarázható pl. a 6 D kromoszómán kódolt komponensek azonos molekulaszúlya, de eltérő elektroforetikus mobilitása az alumínium-laktátos gélben (7. ábra). Hasonló módon származtatják a az 1 B kromoszómán kódolt két 41 kDalton molekulatömegű polipeptidet, melyek töltésükben térnek el egymástól (6. ábra 5. és 6. folt).



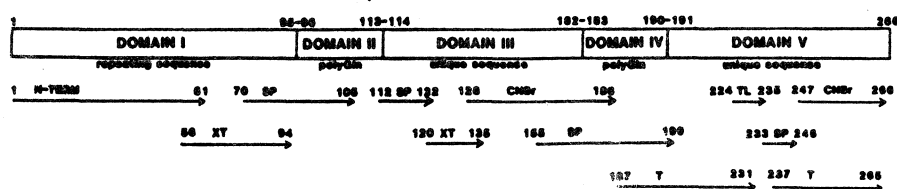
7. ábra Bezostaya 1 (a) és Mironovskaya Yubileinaya (c) α , β és γ gliadinjainak kétdimenziós elektroferogramja és a komponensek sematikus megoszlása allél-blokkok között (b,d). (Metakovsky és munkatársai, 1978).

Ilyen különbségek olyan pontmutációk eredményei lehetnek, melyek a fehérje molekulatömegét nem, de nettó töltését megváltoztatják. Az evolúciós szempontból érdekes blokkok egy másik csoportja olyan páros komponenseket tartalmaz (6. ábra 1. és 2. folt), melyek közel azonos mennyiségben fordulnak elő, molekulatömegük nagyon hasonló és a nagyobb molekulatömegű elektroforetikus mobilitása is nagyobb. Ezek génjei is eredetileg egy gén duplikációjával jöhettek létre, a köztük levő különbséget egy mutációs esemény alakította ki. A nehezebb komponens nagyobb mobilitása a gliadin génbe történő olyan genom részlet láncközi beépülésével magyarázható, amely magas bázikus aminosavtartalmú fragmentet kódolt. Ilyen „nem gliadin” szekvenciák beékelődésének felismeréséhez a gliadinok aminosav-sorrendjének pontos ismerete szükséges. A gliadin génkomplexekben előforduló delécióra és/vagy egyéb kromoszómális átrendeződésre ill. azonos szekvencia mellett represszió- \bar{d} erepresszió típusú szabályozásra utalnak olyan különbségek, mint pl. a 6A kromoszóma által kódolt α -gliadinok a Bezostaya és Koncho változatokban. Az utóbbi α -gliadinjaiból 2 komponens hiányzik a Bezostaya 6A α -gliadinjaival összevetve.

Sajátos jelentőségű a 6B ábra 1 B3 foltcsoportja. A 8 ω - és 3 γ gliadin komponens kódja a búza 1B kromoszómáján lokalizált, de rozs-típusú génnek tekintik. Megjelenését a búza Kavkaz kultúr-változatában kromoszómális transzlokációval magyarázzák, és jó példája a gabonafélék tartalékfehérjéit kódoló génkötegek közös evolúciós eredetére. A fő gliadin génkomplexek működésének szabályozására a 2. kromoszómacsoporton tételeznek fel regulátor géneket. A 2. homeolog csoportban aneuploidokban az 1. 6. komplex gliadinjainak aberráns alegységszerkezetét tapasztalták (Brown és Flavell, 1981). Az aberráció mértéke dóziszfüggést mutatott,

ebből következtek a regulátor szerepre. Ez a hatás azonban csak kisebb jelentőségű, az érintett komponensek változásai csak nagy felbontású kétdimenziós elektroforetikus szétválasztással mutathatók ki. A gliadin gének kifejeződése szabályozás tekintetében is az 1. és 6. homeolog kromoszómákhoz rendelhető. A gliadinok polimorfizmusának felmérésére tehát az 1. és 6. homeolog csoport komplex lókuszáinak részletes vizsgálata, a finomszerekezet felderítése visz közelebb. Részletes citogenetikai analizisek a *Triticum* fajok poliploid evolúciójában a genomváltozásokat három csoportba sorolták. A transzlokáció (1) és inverzió (2) útján létrejött kromoszóma szerkezeti változásokra az interspecifikus hibridek meiosisának kromoszómapárosodási képéből következtek, de jelentős az ancestor kromoszómákkal összevetve a heterokromatizáció (3) mennyiségi változása is egyes poliploidok evolúciója során (Dvorak és Appels, 1982). Az evolúció során bekövetkezett génszintű változások pontos jellemzése a DNS bázisszekvencia meghatározásokból következhet. *Triticum* fajok klónozott rDNS-ének restriktív térképét összevetve erősen konzervatív és nagyon nagy változatosságot mutató szekvenciákat találtak. Ezek pozíciója a tandem génekötegen és spacer régiókon belül eléggé állandónak mutatkozott. A mutációval és szelkcióval önmagában ez a szekvencia polimorfizmus nem magyarázható. Nem egyenlő crossing over, lánc-transzfer, mismatch repair egyaránt lehet forrása tandem ismétlődő gének kötegeiben ilyen elrendeződések kialakulásának. Mint hipotézist, lehetségesnek tartják az RNS kofaktor szerepét is - heteroduplex képzés és exciziós repair útján (Appels és Dvorák, 1982). A szelkció kisebb jelentőségét ezekben a szekvencia-változásokban az eredményezi, hogy tandem génekötegek lévén a hiba egyes egységekben nem okoz funkciókiesést, illetve a spacer régiók nagyobb hányada át sem íródik. Ennek analógiájára hasonló nagyobb mértékű polimorfizmus kialakulására és gyors evolúciós rögzülésére lehet számítani más, több kópiában jelenlévő gének kötegeiben, különösen akkor, ha kisebb szekvencia-változások nem is okoznak hibás funkciót vagy funkciókiesést a termék szintjén. Ez igen nagy mértékben igaz lehet a tartalék fehérjékre és azok génjeire. Az rDNS régiók szerkezeti analógiája azért is felvethető, mert a búza 6. kapcsolási csoportjában az RNS gének és a gliadin gének régiója közel helyezkedik el egymáshoz (Dvorak és Chen 1984). A DNS szintű technikák számára a nagy mennyiségben képződő tartalékfehérjék génjei egyébként is jól kezelhető objektumnak tekinthetők a nagy transzkripció aktivitás, vagy a fehérjék kísérleti célra nem korlátozott tömege miatt. Kasadra és munkatársai (1984) az α -típusú gliadinok aminosavszekvenciájának adataiból és a cDNS plazmidjának előállítás útján jellemezték a molekulát. A szintetizálódó α -gliadin egy kb. 20 aminosavból álló szignál szekvenciát tartalmaz, ez a hidrofób molekularészlet az érés folyamán lehasad a molekuláról. A molekula többi része öt domain-be foglalható, amelyek jellegzetes bázisszekvenciáknak felelnek meg. (8. ábra) Két domaint (III. és v.) ősi gliadin génekből származtatnak, egyedi szekvenciát és szerkezeti homológiát mutatnak a "B" hordeinekkal és a γ -típusú gliadinokkal. Az I. domain tandem ismétlődő szakaszaival és a II., IV. poliglutamin domain evolúciósan későbbi eredetűek, kialakulásuk forrása a nem egyenlő crossing over vagy génkonverzió lehetett. A genom DNS 'southern blot' analizise alapján a gliadin gének kópia számát mintegy ötvenre

becsülik (Croy és Gatehouse,1985).



8. ábra

A-gliadin (α -típus) domain szerkezete Kasarda és mtsai (1984) nyomán. - A számok az aminosavak számát jelzik, a nyilak a szekvencia-adatok kiterjedését mutatják, rajtuk a meghatározási eljárás jele : XT - kimotripszines peptid; SP - S.aureus V 8 proteáz peptid; CNBr - brómcianós peptid; T - triptikus peptid. (Domain típusok értékelése l. a szövegben).

A gliadin génnek finomszerkezetének és szerveződésének ismerete a genomban segít a polipeptid-szinten elemezhető molekuláris polimorfizmus értelmezésében és értékelésében. A szelekciós szempontból neutrálisnak tekinthető molekuláris változatok, amelyek különböző elektroforetikus módszerekkel jól és megbízhatóan kimutathatók, tükrözik a genom szintű polimorfizmust. Ennek megfelelően jó genom markerek, s kimutatásuk a DNS technikáknál lényegesen egyszerűbb. A génszintű változások és változatok nagy variációs lehetősége miatt azonban a genetikailag homogénnek tartott fajtákon, vonalakon belül eltérő elektroforetikus gliadin mintázatot lehet kimutatni egyedi analízissel. Ezek lehetnek termőhelytől függő változatok is egyes fajtáknál, de általában egy-egy biotípusnak tekintik ezeket a formákat, megkülönböztetve a keveredéstől vagy idegen termékenyülésből eredő véletlen változatoktól. (Lookhart, 1985). A gliadinok polimorfizmusát eredményező génszintű változások létrejöttére kedvező a dedifferenciált kallusz-állapot. Ezen az úton szaporított és regeneráltatott "somaclon"-ok tehát várhatóan jelentős fehérjeszintű variabilitást is mutatnak. Teljesül ez a tartalékfehérjék, a gliadinok molekuláris sajátágaiban is, mint arról a legújabb adatok beszámolnak (Cooper és mtsai,1986).

A polipeptidek molekuláris polimorfizmusa széles körben alkalmazást nyert a nemesítő és minősítő munkában. A búza gliadin polimorfizmusa genetikai háttérének ismerete azonban felhívja a figyelmet arra, hogy a legjobb biokémiai módszerekkel kapott eredmények is csak akkor válnak genetikailag értékelhető markerekké, ha elegendően nagy számú vizsgálat a polimorfizmust kialakító és szabályozó tényezők természetét is tisztázza.

H.NAGY ANNA

I r o d a l o m :

Appels,R.,Dvorak,J.(1982) : Relative rates of divergence of spacer and gene sequences within the rDNA region of species in the Triticeae : implications for the maintenance of homogeneity of a repeated gene family. Theor.Appl.Genet. 63, 361-365.

Brown,J.W.S.,Flavell,R.B.(1981): Fractionation of wheat gliadin and glutenin subunits by two dimensional electrophoresis and the role of group 6 and group 2 chromosomes in glia-

- Cooper, D.B., Sears, R.G., Lookhart, G.L., Jones, B.L. (1986): Heritable somaclonal variation in gliadin proteins of wheat plants from immature embryo callus culture. *Theor. Appl. Genet.* 71, 784-790.
- Croy, R.R.D., Gatehouse, J.A. (1985): Genetic engineering of seed proteins : Current and potential applications. In *Plant Genetic Engineering*. Ed. J.H. Dodds. Cambridge Univ. Press. pp. 143-286.
- Dvorak, J., Appels, R. (1982): Chromosome and nucleotide differentiation in genomes of polyploid Triticum species. *Theor. Appl. Genet.* 63, 349-360.
- Dvorak, J., Chen, K.Ch. (1984): Distribution of nonstructural variation between wheat cultivars along chromosome arm 68p: evidence from the linkage map and physical map of the arm. *Genetics* 106, 325-333.
- Kasarda, D.D. et al. (1984): Nucleic acid (cDNA) and amino acid sequences of α -type gliadins from wheat (*Triticum aestivum*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 4712-4716.
- Lookhart, G.L. (1985): Gliadin electrophoretic variations in foundation Arkan wheat grown at 16 Kansas agricultural experiment stations in 1983. *Cereal Chem.* 62(5), 355-360.
- Mecham, D.K., Kasarda, D.D., Qualset, C.O. (1978): Genetic aspects of wheat gliadin proteins. *Biochemical Genetics* 16, 831-833.
- Metakovsky E., V., Novoselskaya, A.Yu., Sozinov, A.A. (1984): Genetic analysis of gliadin components in winter wheat using two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theor. Appl. Gen.* 69, 31-37.
- Payne, P.I. et al. (1984): Wheat storage proteins : their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B.* 304, 359-371.
- Payne, P.I. et al. (1985): Two-dimensional fractionation of the endosperm proteins of bread wheat (*Triticum aestivum*). *Biochemical and genetic studies. Cereal Chem.* 62(5), 319-326.



The death of Albert Lehninger on 4 March 1986 will be mourned by biochemists the world over for many reasons. Not only was he a great scientist and a fine person, but he also played a major part in the teaching of biochemists through his textbooks, which were appreciated by students of both science and medicine. The photograph shows him being admired by young Indian biochemists at the time of the celebrations of the Golden Jubilee of the Society of Biological Chemists (India) at the FAOB meeting at the Indian Institute of Science, Bangalore, in December 1980. Lehninger gave freely of his time, both to meet students and to lecture to them. When in 1972, following the FEBS meeting in Varna in 1971, IUB set up an Advisory Committee on Biochemical Education, Albert Lehninger became a founder member of the Committee and gave much support to our efforts in the early days. It is right therefore that our journal should pay tribute to one who has done so much to assist in the development of our science.

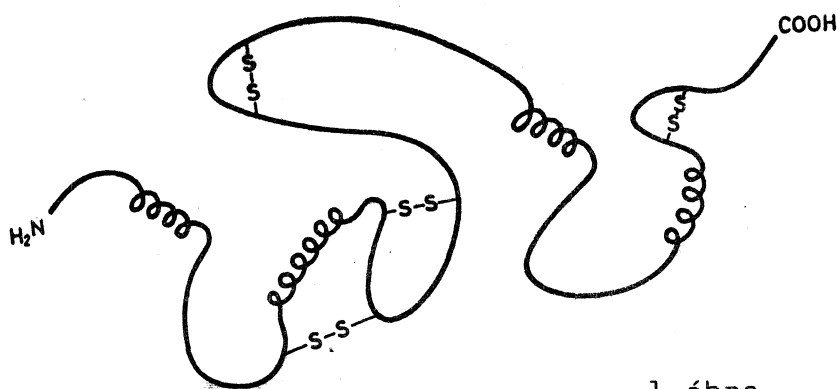
**ALBERT
LEHNINGER
(1917 - 1986)**

P N Campbell




GLIADINOK A TECHNOLOGUSOK SZEMÉVEL

Ha a gabonafeldolgozó iparokban vagy az azokhoz kapcsolódó területeken dolgozó szakember a gliadinról hall, akkor általában a siker jut az eszébe, az a hidratált fehérjekomplexum, amely csak a búzából (búzalisztból) állítható elő és amelynek rugalmassága, szívóssága messzemenően meghatározza a sütő- és tésztaipari termékek minőségét.

Maga a gliadin - az eredeti, Osborntól származó definíció szerint - a fehérjekomplex 70 %-os alkoholban oldódó része, amely számos kis és közepes molekulatömegű, egymáshoz közel álló szerkezetű fehérjéből áll. A jellegzetes gliadin-fehérje szerkezetét az 1. ábra szemlélteti (Lásztity, 1984).



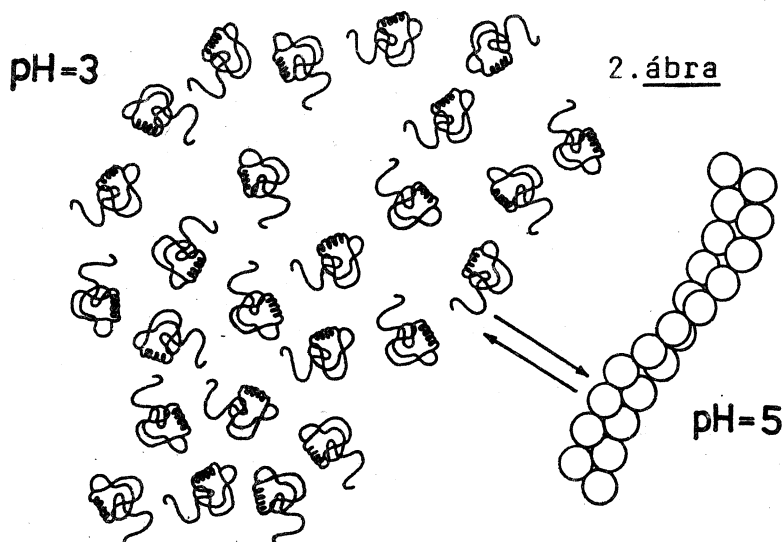
1. ábra

-  hélix
-  random coil
-  -S-S-

A molekula globuláris jellegű, diszulfid kötései intramolekulárisak, a hélixes szerkezetű részek aránya kicsiny. Aminosav-összetételére jellemző a bázikus aminosavak kis részaránya, a nagy glutaminsav (glutamin) és prolin tartalom, viszonylag jelentős hidrofób oldalláncú aminosav-tartalom.

A tiszta gliadin készítmények hidratálva kohezív, de kevésbé rugalmas masszát eredményeznek.

A gliadin molekulák egymás közötti kölcsönhatásaival kapcsolatban a legtöbb adattal az -gliadinokról - Bernardin szerint A-gliadinok - rendelkezünk. A 2. ábra ezeknek a gliadin molekuláknak az aggregációját szemlélteti, Kasarda (1980) nyomán.



2. ábra

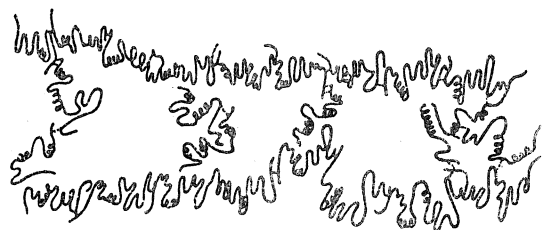
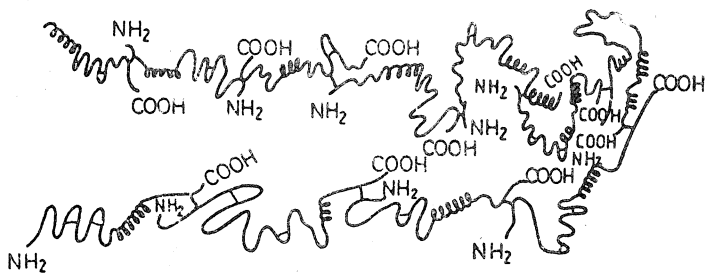
Mivel a tiszta gliadin-készítmények technológiai viselkedése gyakorlati szempontból

kevéssé tarthat érdeklődésre számot, ezért a legtöbbet a gliadinok sikérkomplexen belüli szerepével foglalkoztak. Lényegében ebben a vonatkozásban az egyik kulcskérdés : milyen a gliadinok és a másik fő sikérkomponens molekula típus, a gluteninek (nagy molekulatömegű tartalék fehérje) közötti kölcsönhatás ? A 3. ábra a glutenin molekula feltételezett szerkezetét mutatja, míg a 4. ábra a kétféle molekulatípusból felépülő sikér-vázat szemlélteti. (Lásztity, 1984). Eszerint a gliadin molekulák a lineáris jellegű glutenin molekulák között helyezkednek el, hozzájárulva a térhálós fehérjeváz kialakításához.





3. ábra

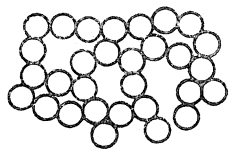
Ezekhez a strukturákhoz képest valamivel bonyolultabb szerkezetet mutat az 5. ábra (Huebner, 1977), amely a gliadin és a glutenin mellett a maradék (az Osborne-féle eljárással nem oldódó) fehérfrakciót is figyelembe veszi. A 6. ábra Bietz és Wall (1980) sémáját ábrázolja, amely a sikérkomplexben kisebb mennyiségben előforduló egyéb fehérjék bekapcsolódását a sikérképzésbe szemlélteti.

Említésre méltó, hogy a sikérkomplex - ha a buzalisztet előzetesen nem zsírtalanították - mindig tartalmaz lipideket, amelyek kölcsönhatásban vannak a fehérjékkel. Több, a gliadin - csoportba tartozó fehérjéről mutatták ki, hogy jelentős az affinitása elsősorban a poláros lipidekhez, amelyek szerepet játszanak a fehérjemolekulák aggregációjában is és ezen keresztül az egész sikérkomplex fizikai tulajdonságainak meghatározásában is (Békés és munkatársai, 1983). Valószínűleg erre vezethető vissza az, hogy a búzák lipidlipidfrakcióinak a vizsgálata bizonyos következtetések le-

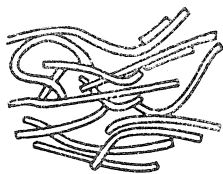


4. ábra

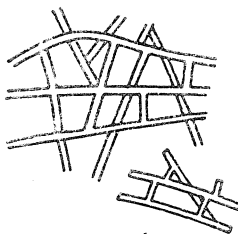
-  Hélix
-  Random coil
-  Diszulfid kötés
-  Hidrogén híd vagy hidrofób kötés



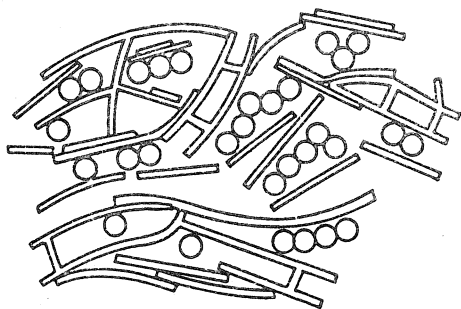
GLIADIN



GLUTENIN

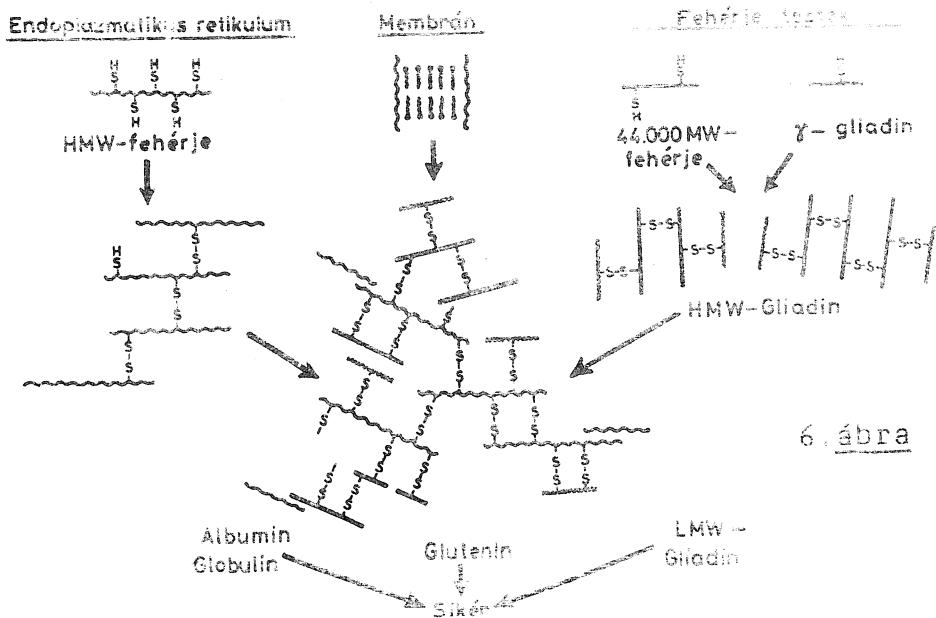


MARADÉK



SIKÉR FEHÉRJÉK

5. ábra



6. ábra

vonását teszi lehetővé a búzaminóséggel kapcsolatban is. (Zavistovska és munkatársai, 1984).

Az előzőekben ismertetettek alapján többé-kevésbé világos képünk van a gliadin molekulák helyéről a sikérkomplexen belül. A további kérdés az, hogyan befolyásolják a gliadin molekulák a sikér fizikai sajátosságait és ezen keresztül sütőipari tulajdonságaikat, milyen mennyiségi arányok a kedvezőek és vannak-e kitüntetett szerepű (jelentőségű) gliadin-komponensek.

Régebbi gyakorlati tapasztalatok és az újabb fehérjeelválasztási technikákon nyugvó kutatási eredmények egyaránt azt mutatják, hogy a kis, illetve a nagy molekulatömegű fehérjék részaránya a sikérkomplexen belül jelentősen befolyásolja a sikér reológiai sajátosságait (Lásztity és munkatársai, 1984). A kis molekulatömegű (gliadin) komponensek nagy részaránya mindenképpen minőségrontó hatású (nem kielégítő rugalmasság, túl nagy nyújthatóság, ragadósság). Ugyancsak kedvezőtlen a nagy molekulatömegű tartalékfehérje (a glutenin) túlsúlya (túlzott szívósság, gyenge nyújthatóság). Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy valamilyen optimális arány állapítható meg a két főkomponens között. Hazai kutatások alapján ezt 1:1 arányként adják meg. Mai ismereteink alapján ez az optimum nem abszolút érték: ingadozik a két főkomponensnek búzafajtától, évjárattól, agrotechnikától függő változó sajátosságai és az egyéb komponensekkel való kölcsönhatásai következtében.

Hogy vannak-e kitüntetett szerepű gliadin-komponensek a technológiai minőség szempontjából, erre a kérdésre még nem tudunk egyértelmű választ adni. A biokémikusok, genetikusok és növénynevelők együttműködésének eredményeként egyre több és több búzafajta gliadinjainak spektrumát (elsősorban a gélelektroforézis és újabban a fordított fázisú, nagy hatékonyságú folyadék-kromatográfia, RP-HPLC) ismerjük meg és összefüggéseket kereshetünk a spektrum, valamint a sikér, illetve a sütőipari tulajdonságok között. Ma már megállapítható, hogy a sütőipari minőség szempontjából eltérő fajták gliadin-fehérje spektrumai között eltérések találhatók. Ezek lehetővé teszik a jó sütőipari minőségek

kapcsolását bizonyos fehérjesávokhoz, vagy akár ezeket a komponenseket kódoló génekhez vagy kromoszóma-szakaszokhoz (Sozinov 1984, Branlard és munkatársai, 1984). Kérdés azonban az, hogy a jobb minőség egyszerűen csak ezeknek a gliadin-komponenseknek a siker strukturájában betöltött szerepével függ-e össze, vagy komplexebb hatásról van szó (esetleg ezen kromoszóma szakaszokhoz kapcsolódó egyéb tényezők összesített hatásáról).

A választ két irányból várhatjuk. Az egyik : a génebézészet rohamos térhódítása a növényi biokémiában; a másik a kis mennyiségű fehérjekeverékekkel dolgozó mikroreológia. A kérdésekre a-dandó egyértelmű válasz egyben azt is jelenti, hogy nemcsak molekuláris szinten tudjuk majd magyarázni a tézstaképződés folyamatait, hanem várhatóan képesek leszünk a technológiai célnak optimálisan megfelelő búzafajták kialakítására is.

LÁSZTITY RADOMIR

I r o d a l o m :

- Békés F., Zawistowska, U., Bushuk, W. (1983) : Protein-lipid complexes in the gliadin fraction. *Cereal Chem.* 60, 371.
- Bernardin, J.E., Kasarda, D.D., Mechan, D.K. (1967) : Preparation and characterization of α -gliadin. *J. biol. Chem.* 242, 445.
- Bietz, J.A., Wall, J.E. (1980) : *Cereal Chem.* 57, 415.
- Branbard, G., Rousset, M., Villemont, P., Moussé, C. (1984) : Prediction of the technological quality of bread wheat from the gliadin and glutenin polymorphism. *In: Gluten proteins. Proc. 2nd Int. Workshop on Gluten Proteins.* Graveland, A., Moonen, J.H.E. eds. TNO Wageningen, pp. 195-206.
- Huebner, F.R. (1977) : Wheat proteins and their functionality in baking. *Bakers Dig.* 51/5/ 25, 154.
- Kasarda, D.D. (1980) : *Am. Technol. Agric.* 29, 151.
- Lásztity, R. (1984) : *The Chemistry of Cereal Proteins.* CRC Press, Boca Raton.
- Lásztity, R., Varga, J., Őrsi, F. (1984) : The effect of the fertilizers on the protein distribution and technological quality of wheats. *In: Gluten proteins. Proc. 2nd Workshop on Gluten Proteins.* Graveland, A., Moonen, J.H.E. eds. TNO Wageningen, pp. 69-79.
- Sozinov, A. (1984) : Blocks of cereal storage as genetic markers. *ibid.* pp. 121-128.
- Zawistowska, U., Békés, F., Bushuk, W. (1984) : Intercultivate variations in lipid content, composition and distribution and their relation to baking quality. *Cereal Chem.* 61. 527.

PROTEIN ENGINEERING '87



Conference Secretariat
Protein Engineering '87
 Nuneham Park
 Nuneham Courtenay
 OXFORDSHIRE OX9 9PG
 UK

A nagy molekulatömegű gliadin-alegységek lipidkomplexei és szerepük a sütőipari minőség kialakításában

A búzaliszt kémiai összetétele tapasztalatok szerint jelentősen befolyásolja a belőle készített termékek minőségét. Ebben a gabonakémiával foglalkozó kutatók egyetértenek, a jelenség okaira nézve azonban eltérő véleményekkel találkozunk. Általánosan csak az a nézet elfogadott, hogy a kémiai összetételük közül a fehérjék, elsősorban a sikérfehérjék, a minőséget meghatározzák. Ezek között a nedvesítés és mechanikai megmunkálás hatására számos kölcsönhatás létesül és ennek nyomán alakulnak ki a termék fizikai és reológiai tulajdonságai. De mi a szerepük a sikérkomplexben jelenlévő lipideknek? Ezt a kérdést mindeddig kevéssé vizsgálták, jóllehet tapasztalatok bizonyítják, hogy a megfelelő fehérjeösszetételű liszt sütőipari minősége lipidkeverékekkel javítható. Különösen akkor, ha a keverék poláros lipid részaránya nagyobb a természetes lisztben mért értéknél. A tapasztalati tényeket a sikérből izolált lipidek analízis-adataival összevetve megállapítható, hogy a sikérkomplexben jelenlévő lipidek fontos, funkcionális szerepet játszanak azért, hogy a fehérjemolekulákkal kölcsönhatásba lépve befolyásolják azok további kötődési sajátosságait. A következőkben ismertetendő elképzelések csaknem mindegyik sikérmodell megalkotásában szerepelnek. A modellek közös vonása az, hogy a kialakuló kölcsönhatásokat olyan membránstruktúrában képzelik el, amelyet elektronmikroszkópos vizsgálatokra alapoztak. A fehérje-lipidkomplexek kialakításában elsősorban azok a lipidek játszanak szerepet, amelyek mind poláros, mind apoláros részekkel rendelkeznek, így a foszfo- és szulfolipidek. A hidrofób és hidrogénhidas kölcsönhatásokban természetesen neutrális lipidek is részt vehetnek.

Kanadai búzákon végzett saját vizsgálataink azt mutatják, hogy a klasszikus OSBORNE-féle frakcionálással kapott gliadin frakció jelentős glikolipid-kötő képességgel rendelkezik és ennek a kapacitásnak a kihasználása összefüggésben van a sütőipari minőséggel. A könnyebb kezelhetőség és a minőséggel való közvetlen kapcsolat érthetően a gliadin-frakció irányába terelte a kutatómunkát. Itt újabb kérdéscsoport merült fel: mennyire tekinthető egységesnek az OSBORNE-féle gliadinfrakció? Ha léteznek alfrakciók, azonos-e ezek lipid-kötőképessége? Mely gliadinfrakciók lipidkomplexei játszanak szerepet a sütőipari minőség alakításában?

Az OSBORNE-féle frakcionálás alkoholban oldódó gliadinfrakciójáról megállapíthatjuk, hogy nem egységes anyagcsoport és az alfrakciók száma tulajdonképpen az alkalmazott elválasztási technika függvénye. Az alfrakciók leggyakoribb csoportosításának alapja a gél-sűrűségi technika, amely a következő fő frakciókat különbözteti meg:

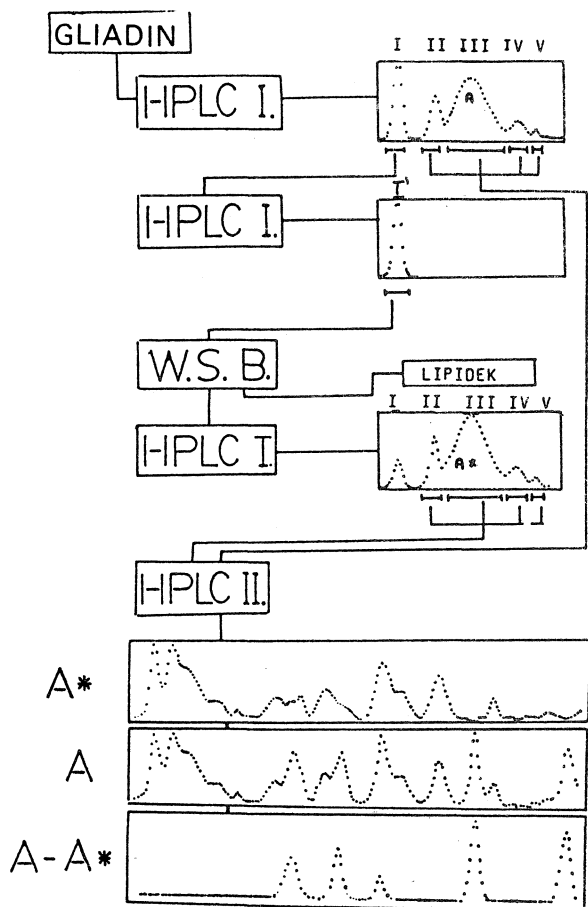
Nagy molekulatömegű (HMW) gliadin frakció - 100 000 feletti molekulatömegű, intermolekuláris diszulfidhidakkal öszezekapcsolt alegységekből álló fehérje.

Kis molekulatömegű (LMW) gliadin-frakció - intramolekuláris diszulfid-hidakat tartalmazó, kis molekulatömegű (36 000 - 80 000), egy polipeptidláncból álló fehérje.

Hidrofób gliadinok - kis molekulatömegű fehérjék.

A fenti alfrakciók közül az LMW-gliadin elektroforézissel tovább bontható α , β , γ , ω szubfrakciókra és nagyon valószínű, hogy nem ezek a frakciók lesznek az elválaszthatóság határát jelentő vég-ső molekulák.

Az egyes gliadin alfrakciók lipídkötő képességének tanulmányozása során saját vizsgálatainkkal kimutattuk, hogy a fehérje-lipid komplexek felépítésében a nagy molekulatömegű gliadinok játszanak döntő szerepet. Gélszűrési kísérleteink azonban csak a kezdetet jelentik a komplexek szerkezetének felderítésében és továbbra is nyitott az a kérdés, hogyan alakul ki az aggregátum, milyen körülmények között bontható meg és a különböző átalakulások hogyan befolyásolják a liszt sütőipari minőségét. A fehérje-lipid komplexek beható vizsgálata intenzív folyadékromatográfiás technika (HPLC) alkalmazásával történt. Munkánk során három, különböző minőségű lisztből nyertük ki a gliadin-frakciót részben OSBORNE-féle eljárással, másrészt pedig a lisztből készített tésták sikerjéinek BUSHUK-ZILLMANN-féle pH-precipitációs módszerével. Az így nyert gliadin részeket az 1. ábrán látható kísérlet-sorozatnak vetettük alá.



1. ábra A gliadin vizsgálatok menete

A gliadin-fehérjét első lépésben molekulaméret szerint fracionáltuk - gélpermeabilizációs HPLC technika segítségével. A kapott 5 csúcs közül az első felel meg a HMW-gliadinnak, illetve lipid-komplexének, míg a II. és III. csúcs a LMW-gliadinnak. A IV. csúcs valószínűleg a hidrofób gliadin, míg az V. csúcs fehérje volta kétséges. Az LMW-gliadinokon belül a II. csúcs gélelektroforetikus vizsgálatok alapján ω -gliadinnak mutatkozott, a III. csúcs pedig (az ábrán A*-val jelölt) α , β , γ -gliadinok keveréke. Az I. csúcsot recirkulációs HPLC segítségével elválasztva és dúsítva lehetőség kínálkozott alaposabb vizsgálatára. Először vízzel telített butanollal zsírlanítottuk, majd újabb gélpermeabilizációs HPLC-s elválasztást hajtottunk végre. A kapott kromatogramot az előzővel összevetve lényeges különbségeket észleltünk. Közülük legszembetűnőbb az I. csúcs

- a HMW gliadin - mennyiségi csökkenése, illetve az α , β , γ jelű - A* csúcs - kis molekulatömegű gliadinok jelentős növekedése. Ez azzal magyarázható, hogy zsírtalanítás hatására a nagy molekulatömegű gliadin-lipid komplex megbomlik és részben kisebb molekulatömegű gliadinokra esik szét. Így feltételezhető, hogy a nagy molekulatömegű gliadinok lipidkomplexei mellett kisebb molekulatömegű gliadinok is részt vesznek a lipidkötésben részben önmagukban, nagyobb részben pedig úgy, hogy a HMW-gliadin-lipidkomplexekhez kötődnek; ez a kötődés zsírtalanítás hatására felbomlik. A zsírtalanítás után keletkező kisebb molekulatömegű gliadinok retenciós idejük alapján megegyeznek az eredeti lisztből származó gliadinok megfelelő alfrakcióival.

A kis molekulatömegű gliadinokat a továbbiakban fordított fázisú HPLC technikával vizsgáltuk annak eldöntésére, hogy mely gliadin-frakciók vesznek részt a fehérje-lipid komplexek kialakításában. A körülbelül azonos molekulatömegű A, illetve A jelölt gliadincsoportok hidrofóbicitás alapján történő szétválasztása eltérő képet mutat. Ha a két spektrum képét matematikailag összegezzük, a differenciálspektrum megadja azokat a gliadin alfrakciókat, amelyek szerepet játszhatnak a nagy molekulatömegű gliadin fehérje-lipid frakciónak kialakításában. A gliadin-alfrakciók gélelektroforetikus és izoelektromos fókuszálási vizsgálatai megerősítették ezt a feltételezésünket. Kérdéses maradt azonban az, hogy a kis molekulatömegű gliadinok beépülése a fehérje-lipid komplexbe csupán véletlenszerű, vagy felfedezhető bizonyos specifikusság. A fehérje-lipid komplexben kötötten található, illetve a szabadon előforduló gliadin alfrakciók fordított fázisú kromatográfiás adatai egyértelműen arra mutatnak, hogy csak speciális kis molekulatömegű gliadin-alfrakciók képesek kötődni a nagy molekulatömegű gliadin-lipid komplexekhez.

A különböző sütőipari minőségű lisztek gliadinjainak alegység szerkezete eltérő képet mutat. Ezek közül a leglényegesebb a jó minőségű liszteknel észlelt igen magas HMW gliadin-lipid-komplex koncentráció. A zsírtalanítás hatása abban nyilvánul meg, hogy az ω , illetve az α , β , γ -gliadinokat tartalmazó csúcsok megnövekednek, ami azzal magyarázható, hogy a komplex kisebb molekulatömegű gliadin alfrakciókra esik szét. A fordított fázisú HPLC technikával vizsgált gliadinok alegység-szerkezete ugyancsak jelentős eltéréseket, fajtákra jellemző specifikus vonásokat tartalmaz. Ezek ellenőrzése után feltételezhető, hogy a gliadinok, illetve a gliadin-lipid komplexek HPLC-s vizsgálatai - a gélelektroforézises vizsgálatok mellett - bevonulhatnak a búzalisztek, illetve búzaszemek fajta-azonosítására alkalmas módszerei közé.

BÉKÉS FERENC, ŐRSI FERENC,
EMBERNÉ, KÁRPÁTI MÁRIA, SCHMIED ISTVÁN, MOSONYI ÁGOTA

LISZTBETEGSÉG ÉS A GLIADINOK

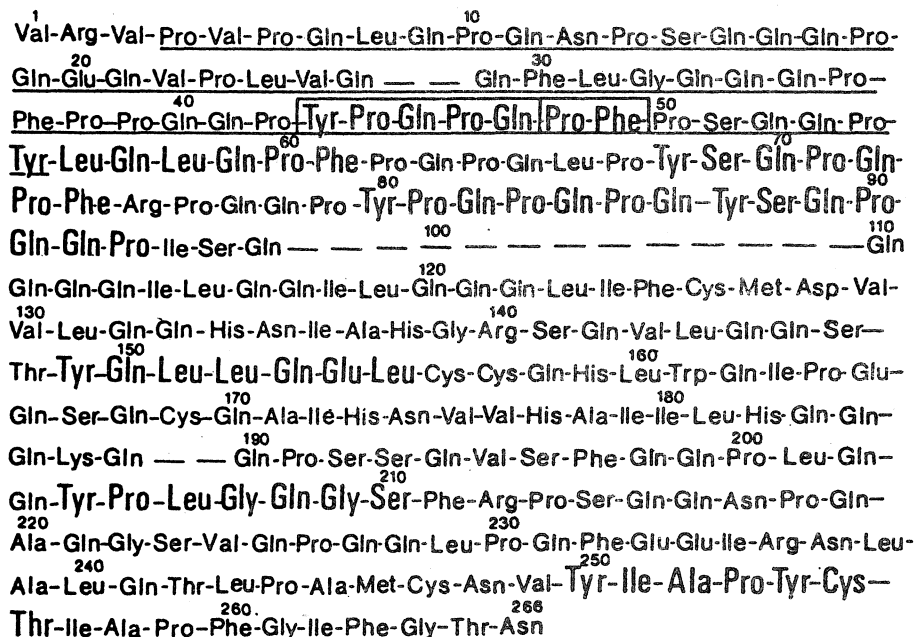
A növényi fehérjék közül sokezer év óta a búzafehérjék a legfontosabbak. Az ENSZ adatai szerint (1982) földünkön a teljes kalória-fogyasztásnak csaknem egynegyedét a búzából készített termékek és ételek adják.

A legutóbbi időkig nem is gondoltak arra, hogy a búzaliszt tartalmú ételek fogyasztása ártalmas lehet. DICKE 1950-ben vetette fel egy jól ismert kórkép, a coeliakia és a búzaliszt közötti kapcsolatot. Feltételezése beigazolódott, s kiderült, hogy a búza fehérjekomponensei közül a gliadinok felelősek a károsító hatásért. Mai ismereteink szerint egy bőrbetegség, a dermatitis herpetiformis oka is gliadin-érzékenység. Legújabban felvetették a schizophrénia és a búzaliszt-fogyasztás lehetséges kapcsolatát.

MOLEKULAMÉRET ÉS KÁROSÍTÓ HATÁS

A gliadin kétdimenziós elektroforézissel nagyszámú komponensre választható szét. A frakciók közül az α -gliadinok betegséget kiváltó hatása egyértelműen elfogadott (29,38), a β -és γ gliadinok károsító hatását is leírták (33), az ω -gliadinokról egymásnak ellentmondó közlések láttak napvilágot (33,45). Korábban azt feltételezték, hogy a bélkárosító hatásért a molekulák magas glutamin- és prolintartalma a felelős. Kiderült azonban, hogy a kevésbé ártalmasnak ítélt ω -gliadinokban e két aminosav aránya nagyobb, mint az α -gliadinokban (45). Függe-e a bélkárosító hatás a molekulatömegetől? A gliadinok nagy részének molekulatömege 30-36 kDa között van (48). In vitro szövetkultúra vizsgálatokban a

1. ábra



A — — — — —
 jelölt szakasz
 poliglutamát-
 egység

Az A-(α)gliadin aminosavsorrendje KASARDA és munkatársai (1984) szerint. (Aláhúzottan a coeliakiás károsodásért felelős fragmens; bekeretezeten az általunk vizsgált peptidek.)

2 - 10 kDa közötti frakciók az α -gliadinokhoz hasonló hatást fejtettek ki (4), sőt az 1 - 1.5 kDa-os töredékek is mutattak károsító hatást (41). A molekulatömeg és a károsító hatás összefüggésére vonatkozó kutatások ma sem lezártak. WEISER és munkatársai pepszines és tripszines hasítással (68) olyan fragmentumot izoláltak, amely in vitro immunológiai és szövetkultúra teszteken gliadinszerű hatást mutatott. Kiderült, hogy ez a fragmens az időközben felderített szerkezetű A-gliadin (az α -gliadinok aggregálódó frakciója) 3 - 55 aminosavai között lokalizálható. (35)

A gliadinok szerkezete és a bélkárosító hatásuk közötti összefüggés felderítését nagyon megnehezíti az, hogy a gliadin-érzékenység emberin kórkép, megfelelő állatmodellt mindmáig nem sikerült kísérletes vizsgálatára kialakítani. A károsító hatású gliadin-frakciók vizsgálatára a következő módszereket használták:

- a) in vivo vizsgálatok - betegeknek adták az előállított frakciókat és megfigyelték a székletürítés, a felszívódás és a szöveti kép változásait;
- b) ex vivo és in vitro vizsgálatok - a betegekből vett biopsziás mintákat 24-48 órán át szövetkulturában tartották; a minták egy részéhez gliadin-frakciókat adtak s enzimvizsgálatok (pl. alkalikus foszfatáz) vagy szövettani feldolgozás nyomán következtettek a károsító hatásra (22,37). A betegek gliadin-érzékeny limfocitáit is felhasználták a frakciók biológiai hatásának megállapítására; (30,31)
- c) differenciálatlan sejtvonalakon (pl. leukémiás sejtel) vagy patkány-foetus még nem differenciálódott vékonybelében is vizsgálták a gliadinok hatását (3,4,16), ezek az adatok azonban közvetlenül nem használhatók fel a human károsító hatás bizonyítására. Csak a betegek vizsgálata és a belőlük vett sejtek vagy szövetminták tenyésztése révén nyerhetők értékelhető adatok.

COELIAKIA - GLIADIN-ÉRZÉKENY BÉLBETEGSÉG

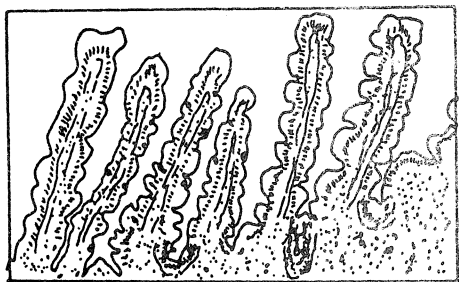
A coeliakia olyan vékonybél-betegség, amelynek hátterében állandó gliadin-érzékenység áll. A betegség felismerésében és lényegének megértésében a vékonybél-biopszia hozott igazi áttörést 30 évvel ezelőtt.

A coeliakiás megbetegedés gyakorisága hazánkban a Gyermekek Gastroenterológiai Munkacsoport biopsziás adatai alapján - 1 : 750 - 1 : 1000-re tehető (40). Hasonló előfordulási arányt találtak Svédországban Malmö környékén - 1 : 982 (7). A legmagasabb gyakoriságot Nyugat-Írországból közölték - 1 : 303 (51). Ma még megválaszolatlan kérdés az, miért lesz egy felnőtt vagy gyermek coeliakiás. Egyes csecsemőknél 3-6 havi gliadinfogyasztás már kiválthatja a betegséget, felnőtteknél viszont gyakran több évtizedes lisztfogyasztás után alakul ki a betegség. Miután FALCHUK (21) 1972-ben felhívta a figyelmet a coeliakia és a HLA B8 antigén közötti kapcsolatra, intenzív kutatómunka kezdődött a betegség genetikai hátterének tisztázására. Kiderült, hogy a HLA DR3 fenotípus a HLA B8-nál is gyakrabban található meg a betegeknél. (39) Ezeknek az antigéneknek a jelenléte azonban nem megfelelő magyarázat a betegségre, hiszen a gliadin-érzékeny betegek egy

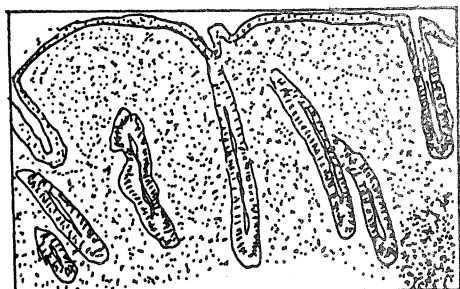
részében nem találhatók meg, másfelől pedig az ezeket az antigéneket hordozó egyének nagy része nem lesz coeliakiás. Más antigénekre vonatkozó hasonló megfigyelések is amellet tanuskodnak, hogy nem megalapozott genetikai determináltság feltételezése valószínű, hogy egy ma még ismeretlen további tényező a felelős a betegség megnyilvánulásáért.

Ismert, hogy a HLA DR és DC antigének az Ir (immune response) gének által meghatározottak, amelyek a vírusfertőzésekkel szembeni immunválaszt is befolyásolják. Az adenovírus 12 54 kD E1b proteinja és az A-gliadin aminosavsorrendjében - egy rövid szakaszon - homológiát mutattak ki, és a vírus-protein ellen termelt monoklonális ellenanyag keresztreakciót mutatott az A-gliadin egy részével. E kísérleti eredmények alapján feltételezik, hogy az adenovírus 12 jelenlétében kialakuló immunválasz jelentős tényező lehet a coeliakia patogenezisében (34). Így elképzelhető, hogy az adenovírus-fertőzés hatására a genetikailag hajlamos egyénekben olyan érzékenyített limfociták képződnek, amelyek a gliadinra is reagálnak és az immunfolyamat károsítja a vékonybelet. E nézőpont szerint a betegség kialakulását megelőzi a vírusfertőzés, s ennek nyomán fejlődik ki a gliadin-érzékenység. A felnőttkori coeliakia kialakulására magyarázatot adhat ez a hipotézis, patogenetikai jelentőségének bizonyítására azonban további vizsgálatok szükségesek.

Tünetek és diagnózis. Gyermekeknél a legbiztosabb tünet a súlyfejlődés zavara. A korábban jól fejlődő, egészséges gyermek súlygörbéje ellaposodik, majd a beteg gyermek súlya stagnál, később csökken, a kórkép súlyosbodásával nagyfokú lesoványodás következhet be. Nagyobb gyermekeknel és felnőtteknél is jellemző a testsúly stagnálása, illetve a lefogyás, ezenkívül a vashiányos vérszegénység. A tünetegyüttest kiegészítik a vitamin- és nyomelemhiányra jellemző bőr- és nyálkahártya elváltozások. - Helyes kórisme szövettani, megismételt vizsgálattal (vékonybél-biopszia) állítható fel. A bélelváltozás felülről lefelé terjed a vékonybélben és egyre hosszabb bélszakaszra terjed ki. Típusos szöveti elváltozások láthatók a 2. ábrán. A bélnyálkahártya egésze elvékonyodott felszíne majdnem sima, a bolyhok eltűntek, a felszínüket leváló köbhámsejtek borítják. A hámszövetben jelentős mértékben megnőtt a limfociták - T-suppresszor sejtek - száma. A hámréteg alatt eozinofil és neutrofil granulociták is megfigyelhetők a limfoid sejtek mellett. Az életteni - 5-7 napos - hámsejt-életciklus 1-2 napra lerövidül.



Ép nyálkahártya



Subtotális boholatrophia

Minthogy nemcsak a coeliakia okozhatja a fenti szövettani elváltozásokat, hanem pl. a tehéntej-allergia és a szója-fehérjeintolerancia is, a diagnózist több biopsziával szükséges alátámasztani. A diéta hatását újabb biopsziával mérik fel. A kórisme akkor tekinthető biztosnak, ha a diéta után normalizálódott szöveti kép

gliadin adására károsodást idéz elő. Ez az ún. terhelési próba azért szükséges, mert a gliadin-tűrőképesség átmeneti hiánya is ismert. Ilyen esetekben néhány hónap diéta utáni újabb lisztfogyasztásra nem következik be bélkárosodás.

Élettani, biokémiai és immunológiai eltérések

A vékonybél hámsejtjei a szervezet legintenzívebben osztódó sejtjei közé tartoznak. 5-7 napos élelciklusuk utolsó harmadában válnak érett, differenciált emésztésre, szintézisre és transzportra alkalmas sejtekké. Sokrétű funkciójukat sok enzim működése révén látják el. Coeliakiás károsodás során az enzimek aktivitása jelentősen csökken, sőt meg is szűnhet (pl. a laktázé). Ez arra vezethető vissza, hogy érett sejtek helyett éretlen, differenciálatlan sejtek borítják a bélbolyhok felszínét, amelyekben az enzimszintézis alacsony szintű - még egészséges egyéneknél is. A felszívódási zavar egyik oka így a felszín csökkenése, a másik pedig a csökkent enzimműködés. Gliadin-mentes diéta hatására az enzimműködés normalizálódik. (13).

A felszívó kapacitás beszűkülésére funkcionális vizsgálatok útján vonhatók le következtetések. Így pl. laktóz-terhelésre a vércukor emelkedése elmarad a normálistól, továbbá szubjektív tünetek és a kilégzett levegő összetételének megváltozása is jelezheti a felszívó kapacitás csökkenését. D-xylóz - terhelésre az 1 órás vérszint (56) vagy a vizeletben ürülő mennyiség (32) lényegesen elmarad a normál értékektől. A betegek többségében a széklettel ürülő zsírmennyiség kóros növekedése figyelhető meg - standard zsírtartalmú étrend hatására (47). Még kezeletlen coeliakiásoknál a vékonybél permeabilitásának fokozódása mutatható ki (12, 27). Mindemellett ma még nem ismert a coeliakiára specifikus funkcionális vizsgálati eljárás. Ezért csak különböző módszerekkel végzett vizsgálatok kritikai értékelése alapján valószínűsíthető meg a vékonybél károsodások kiszűrése (13).

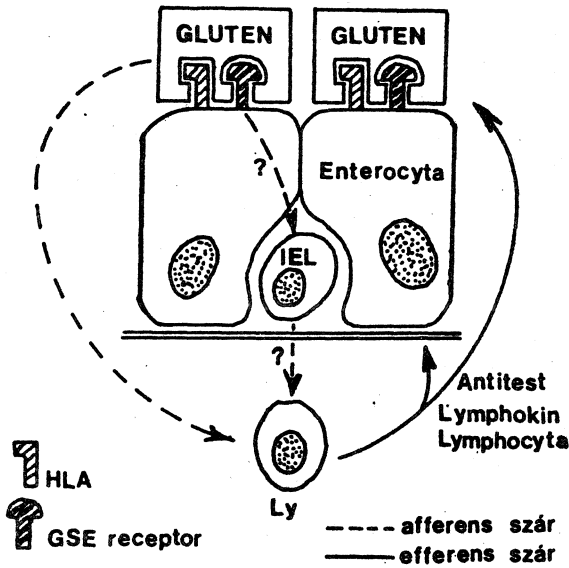
A kezeletlen betegek vékonybelében plazmasejtekből, limfocitákból és eozinofil sejtekből álló beszűrődés látható és a hámszöveti limfociták száma jelentősen nagyobb a normálisnál (24, 58). Ezek a sejtek csaknem kizárólag suppressor-T-sejtek (62). A vékonybélben erősen megnövekszik az IgA, IgM és IgG plazmasejtek száma. Legkifejezettebb az IgM tartalmú sejteké, (60). Az IgE típusú plazmasejtek arányának változásáról eltérőek a vélemények. (19, 52) A beteg bél szövetkultúrájában gliadin jelenlétében leukocita vándorlást gátló tényező szabadul fel /LIF/ (70, 71); jelenléte megfelelő laboratóriumi próbával kimutatható. VERKASOLO (65) vizsgálatai szerint a tartós diétán lévő betegek B-limfocitáinak 43%-a, a T-sejteknek pedig 12.5%-a köti a gliadin-peptidket. (Egészséges egyének B-sejtjeinek csak 17 %-a mutatott gliadin kötést immunfluoreszcens módszerrel végzett vizsgálatokban. MUSUMECI és munkatársai (51) a betegség heveny szakaszában a T-limfociták számának jelentős csökkenését és az antitesttől függő celluláris citotoxicitás /ADCC/ növekedését figyelték meg. A T-sejtek számának csökkenését a károsodott nyálkahártyán keresztül történő sejtvesztéssel magyarázzák (20). Minthogy a hámszöveti limfociták suppressor T-sejtek, az ADCC növekedését ezek selektív vesztese eredményezheti (51). A kezeletlen betegek szérumban gliadin- és retikulín-antitestek mutathatók ki; koncentráció-

juk a diéta során fokozatosan csökken (11,53).

A GLIADIN-ÉRZÉKENY BÉLBETEGSÉG KELETKEZÉSÉRE VONATKOZÓ ELMÉLETEK

Enzim-hiány teória - A betegség kóroktanára vonatkozó egyik első feltételezés szerint öröklött enzim-hiány okozná bélkárosító hatású peptidek keletkezését - a gluten tökéletlen emésztése következtében. (25,15) Kitűnt azonban, hogy a betegség heveny szakaszában számos enzim aktivitása alacsony, s gliadinmentes diéta hatására normalizálódott a helyzet. SJÖSTRÖM és munkatársai (63) a dipeptidil peptidáz IV (EC. 3.4.14) aktivitását gyógyuló betegek vékonybelében is alacsonynak találták, így egy elsődleges gliadin emésztési zavar lehetősége nem zárható ki. BÉRG és munkatársai (6) viszont a Val-Pro és Glu-Pro dipeptidet bontó enzimek aktivitását a diétázóknál sem találták magasabbnak - a kontrollokhoz viszonyítva. Mások a gliadin-szegény diétán lévő betegek bélhámsejtjei kefeszegély- és citoszol-peptidázainak aktivitását normál, vagy csaknem normál értékűnek mérték (1).

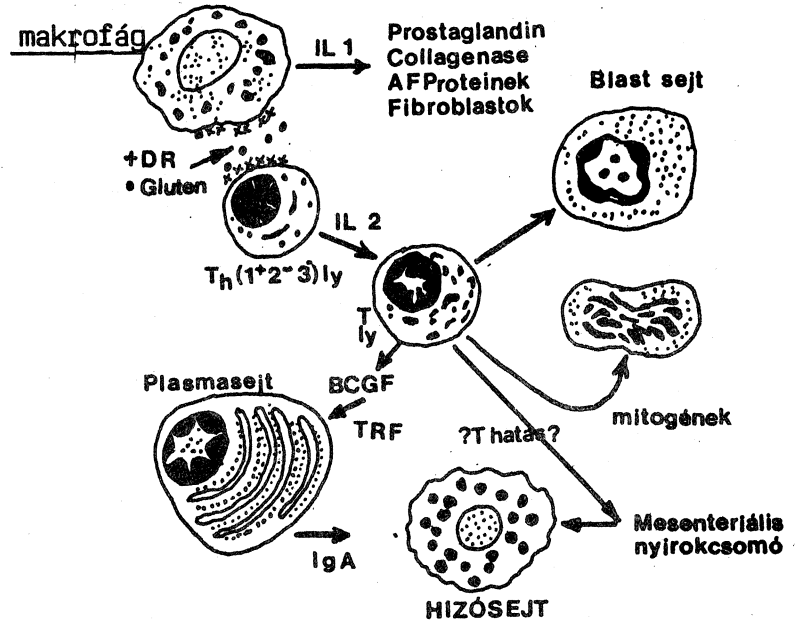
Immunológiai elmélet - FALCHUK és munkatársai (22) beteg és egészséges egyének vékonybél biopsziás anyagát szövetkultúrában vizsgálva az alkalikus foszfatáz aktivitásának emelkedését észlelték. Míg α -gliadin vagy gliadin-fragmen-
sek nem befolyásolták ezt az emelkedést diétázó és egészséges egyének bélszövetében, addig a betegség heveny szakaszában lévő bélszövetében jelentős gátlást okoztak. Ha a beteg és a gyógyulási szakaszban lévő egyén biopsziás anyagát együtt tenyésztették, akkor a gyógyuló egyén szövete is károsodást mutatott. Ennek nyomán arra következtettek, hogy a gliadin nem közvetlenül károsítja a vékonybelet. Az ún. endogén effektor mechanizmus a lokális immunrendszer is lehet, pl. antigliadin antitestek képzésével. Megfigyelték, hogy a kortizol gátolta a gliadin károsító hatását (36). Feltételezik, hogy az immunsejtek által termelt anyag - antitest vagy limfokin - a gliadinnal együtt károsítja a vékonybelet (64). A kortizol gátló hatása is az immunmechanizmus mellett szól. A glukokortikoidokról ismert, hogy a T- és B-limfociták működését egyaránt befolyásolják (57,66). A gliadin-bélsajt kötődés alapján azt is feltételezik, hogy autoimmunreakciót elindító új antigén keletkezik a vékonybélben (61). STROBER (64) 1978-ban fogalmazta meg a coeliakia immunelméletét, amely szerint az immunválasz afferens és efferens oldalán egyaránt zavar lép fel. Az afferens oldalon a gliadin-peptidek specifikus limfoid proliferációt indítanak meg, az efferens szakaszon pedig a gliadin hatásának kitett vékonybél nyálkahártya immunológiai reakciók célszervévé válik. Ezt szemlélteti vázlatosan a 3. ábra. Az immunelmélet lényege vázlatosan a következőkben foglalható össze: a betegek bélsajtjein HLA gének és egy specifikus gén (GSE-gén) hatására gliadin-receptor keletkezik, amihez a gliadinpeptidek hozzákötődnek. A kötődés után a gliadin kapcsolatba kerül a hámszövet limfocitáival és makrofágjaival. Ez a kölcsönhatás immunreakciókat indít meg - helyi antitest termelés, limfokin-produkció, limfociták aktiválása - s ezek következménye a hámsejtek károsodása. A fokozott sejtpusztulás következtében a kriptákban megélnékül a sejtszintézis (23). MARSH (47) immunelmélete szerint a coeliakiás bélkárosodás a glutenre kialakuló sejt-közvetítette immunreakció



következménye. Valószínű, hogy a gliadin a DR⁺ makrofágokkal és a T-helper limfocitákkal kerül kapcsolatba. Az antigénspecifikus limfociták aktiválódását követően keletkező limfokinek más limfocitákra hatva transzformációt és mitózist idéznek elő, továbbá a hízósejtek aktiválódását. Ezután a hízósejtekből kiszabadulnak az enzimek, és a bélkárosodás kemotaktikus és éráktív anyagok hatására jön létre. A folyamatban alapvető szerepe van a permeabilitás megnövekedésének, a szöveti hipoxiának.

3. ábra

A coeliakia immunmechanizmusa



4. ábra

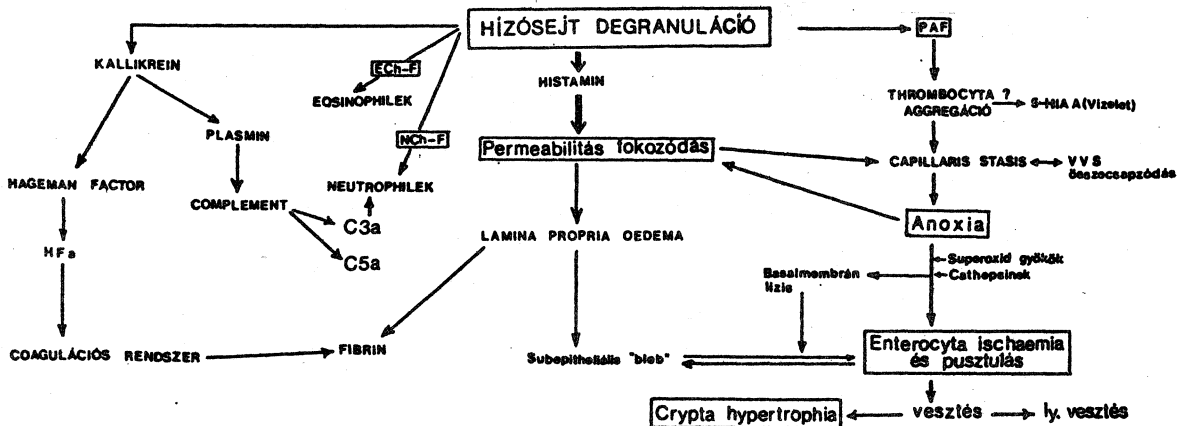
MARSH immunhipotézise

5. ábra

A hízósejt degranuláció következményei MARSH szerint

BCGF = B lymphocyte growth factor

TRF = T lymphocyte replacing factor

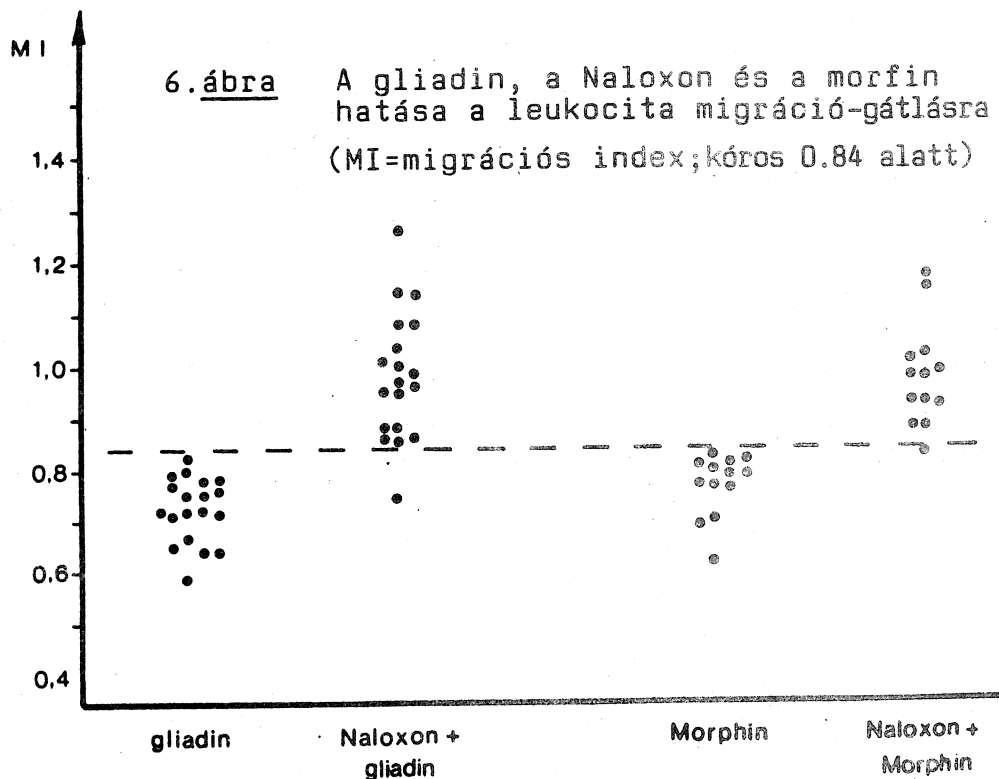


Gliadin-lektin elmélet - WEISER és DOUGLAS (68) vetették fel elsőként a gliadin lektinszerű tulajdonságának lehetőségét. Gliadin-peptidek bélhámsejtekhez való kötődésének vizsgálata során azt találták, hogy a coeliakás betegek bélhámsejtjei - az egészségesekéhez képest - erősen kötik a gliadint. Feltételezték, hogy a gliadin a bélhámsejtek plazmamembránjának eltérése miatt viselkedik lektinszerűen. Később más szerzők kimutatták (42), hogy a gluten-peptidek elsősorban a patkány vékonybél még éretlen sejtjeihez kötődnek, az érett sejtekhez sokkal kevésbé. Mannán és mannóz adása meggátolta a gliadin kötődését. Mannánnal emberi bélszövet -kultúrában is kivédhető volt a gliadin károsító hatása.

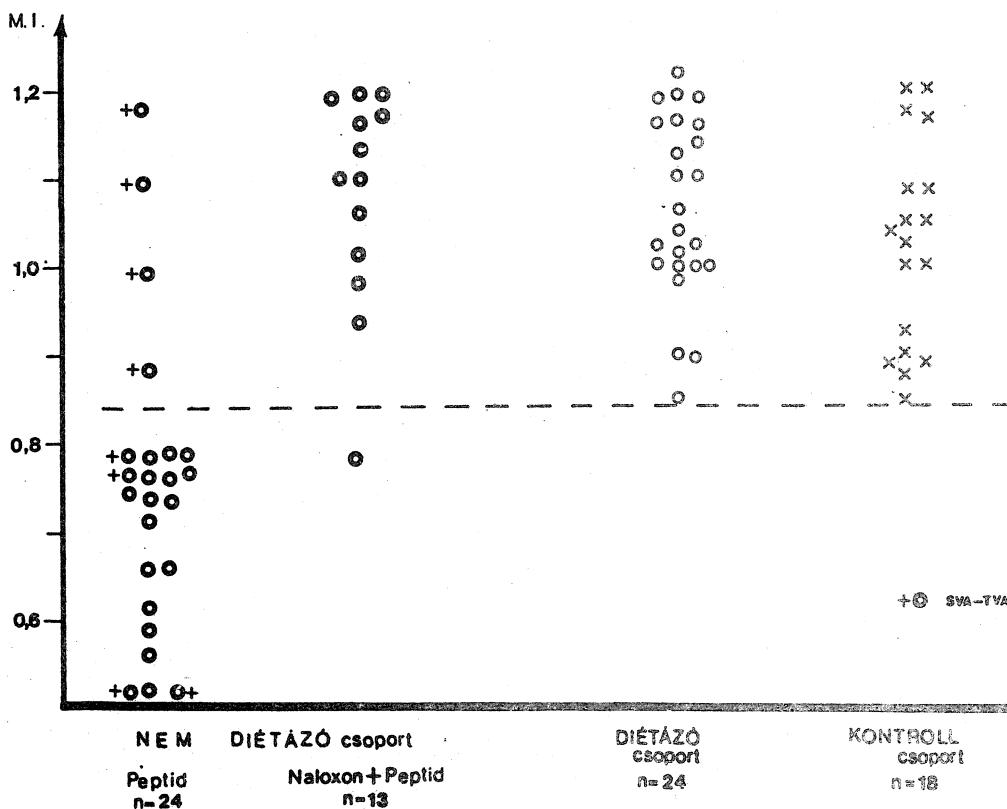
A gliadin-peptidek 17 napos patkány foetus vékonybelében citotoxikus hatásúak voltak, a 21 napos foetus már differenciálódott vékonybelében viszont már nem. (16) Differenciálatlan humán K562/S/ sejt vonalon (krónikus mieloid leukémia) a gliadin agglutináló hatású volt, s ezt mannán adásával meg lehetett előzni (3). A búza, zab, árpa és rozs prolaminjai megakadályozták a patkány foetus vékonybelének differenciálódását - a villusok megjelenését - míg a kukorica, a rizs és cirok prolaminjai nem befolyásolták (3). AURICCHIO vizsgálatai szerint a kenyér búza (bread-wheat) gliadinjai ötször kisebb koncentrációban képesek olyan hatást kifejteni, mint a spagetti készítéséhez használt liszt (durum wheat) gliadinjai. BARRESI és munkatársai (5) összehasonlító vizsgálataikban különbséget találtak a normál és coeliakiás egyének vékonybél membrán-glikoproteinjeinek összetételében.

A coeliakiás bél lektinkötő helyeinek az egészségestől való eltérései, nemkülönben a gliadin-peptidek lektinszerű viselkedése a lektin-elmélet mellett szólnak. Ezt az elméletet azonban további vizsgálatokkal szükséges még megerősíteni.

A gliadin opioid aktivitása - BRANTL és munkatársai (9) kazeinből opioid aktivitású β -kazein morfin izoláltak. ZIUDROU és munkatársai (69) az α -kazeinben és a glutenben is találtak exorfinokat. Kísérleti adataikból (59, 69) kiindulva leukocita-migráció gátlási teszten megvizsgáltuk, lehet-e emberi vonatkozásban szerepe a glutenből az emésztés során felszabaduló opioid aktivitású peptideknek. Kísérleteinkben a betegek véréből elkülönített fehérvérsejteket használtunk, antigénként pedig a BERNARDIN és munkatársai (8) által leírt módszerrel előállított α -gliadint. Az esetek egy részében az α -gliadin pepszinnel és tripszinnel emésztett hidrolizátumával is elvégeztük a vizsgálatokat. A szeparált sejteket két részre osztottuk és az egyik részt Naloxonnal előinkubáltuk; ezután adtuk hozzájuk a gliadint. Azt találtuk, hogy a Naloxon a gliadin által okozott gátlást felfüggesztette, nem befolyásolta azonban a fitohemagglutinin ilyen hatását. Ezután morfin is alkalmaztunk a kísérletekben. Kiderült, hogy az érzékenyített betegeken a morfin - az α -gliadinhoz hasonlóan - migráció-gátlást okozott, míg a kontrolloknál nem. (6. ábra). Ennek alapján felvetettük, hogy a gliadin az opiát-receptorokon keresztül fejtheti ki migráció-gátló hatását, tehát mint exorphin gyakorol hatást a limfociták limfokin termelésére (30, 31).



7. ábra Az α -gliadin-peptiddel /43-49/ végzett leukocita-migráció gátlási vizsgálatok eredményei.



Az A-gliadin aminosavsorrendjének ismeretében saját kísérleteinkben olyan kisméretű gliadin-fragmensek szintézisét és vizsgálatát tűztük ki célul, amelyekről az ismert endogén és exogén opioid peptidekkel való szerkezeti hasonlóság alapján opiát-aktivitást vártunk. Valamennyi Tyr N-terminálisú 5-7 tagú fragmens szintézisét mérlegelve - választásunk a 2.pozícióban Pro-t, Leu-t ill. Ser-t tartalmazó penta-és hexapeptidekre esett. Ezek közül az A-gliadin molekula 43-49 szekvencia-részlete, a Tyr-Pro-Gln-Pro-Gln-Pro-Phe közeli szerkezeti rokonságban áll a β -kazein hidrolizátumából izolált opioid peptiddel, a β -kazomorfinnal (9). A kísérletek eredményeit a 7. ábra szemlélteti. Vizsgálataink azt mutatták, hogy ez a gliadin fragmens leukocita migráció-gátlást idéz elő az α -gliadinra és morfinra is reagáló coeliakiás gyermekeknél. Tudomásunk szerint ez a legkisebb méretű, meghatározott szerkezetű gliadin-fragmens, amellyel a migráció-gátlási tesztben α -gliadinszerű hatást sikerült kimutatni (26). A peptid által kiváltott gátlás minden esetben kivédhető vagy mérsékelhető volt Naloxonnal, ezért mind az α -gliadin, mind a tanulmányozott gliadin-peptid aktivitása opioidszerűnek minősíthető. A Naloxonnal gátolható biológiai aktivitással rendelkező gliadin-fragmentumokra a gliadorfin megjelölést javasoltuk (26).

Az α -gliadin(43-49)peptid normál emberi limfocitákhoz való specifikus kötődését igazoltuk (54). Bizonyítottuk, hogy a 125J-dal jelzett peptid nagy affinitással / $K_D = 2 \text{ nM}$ / kötődik emberi limfocitákhoz, s e kötéséből α -gliadinnal, Naloxonnal és bizonyos enkefalin-analógokkal leszorítható. Említésre méltó, hogy a vizsgált peptidek a hagyományos opiát-teszteken - tengerimalac vékonybél, egér 'vas deferens' és nyúlfül artéria - nem fejtenek ki számottevő aktivitást. Ebből következik, hogy a limfociták felszíni receptorai, amelyekhez a gliadin-peptidek Naloxonnal gátolható módon kötődnek, különböznek az eddig ismert opioid-receptoroktól. Munkánk jelenlegi szakaszában még nem vonhatunk párhuzamot a gliadin-peptidek coeliakiát aktiváló és leukocita migráció-gátló hatásai, valamint a peptidek limfocitákkal való fizikai értelemben vett kölcsönhatása között.

A diéta szigorúságának kérdése a gyakorló orvos számára ma is probléma. Tény azonban az, hogy a nem diétázó betegeknek nem ritkán társuló betegségekkel kell számolni. COOPER és munkatársai (14) 314 felnőtt coeliakiás beteg vizsgálatakor 63 esetben találtak immunpatológiai háttérűnek ismert vagy feltételezett betegséget. (20%-os gyakoriság !) A legtöbb betegnél normál étrenddel összefüggésben lépett fel az immunbetegség és annak tüneteinek már nem javított a gliadinmentes étrend. A Birmingham-ben 1941-1969 között diagnosztizált 250 coeliakiás beteg között 20 bél-limfoma, 16 más típusú gyomor-béldaganat és 4 egyéb rosszindulatú kórkép fordult elő, ami igen magas arány (15). Ma még nem adható egyértelmű válasz arra, hogy - szigorú diétával megelőzhető-e ezek a társ-betegségek.

A dermatitis herpetiformisban szenvedő betegek többségében morfológiai elváltozások találhatók a vékonybélben (10). Ezek jól reagálnak gliadin-mentes diétára (44). Ezenkívül megfigyelték, hogy szigorú diéta mellett a bőrelváltozások kezelésére alkalmazott szulfapiridin dózisát csökkenteni lehetett (55).

A schizophrenia és a lisztfogyasztás közötti összefüggés lehetőségét DOHAN vetette fel először. A két évtized alatt azóta napvilágot látott, részben kísérletes, részben klinikai közlések még nem elegendők a feltételezés igazolására. (17)

+

Köszönetemet fejezem ki Prof.Dr.ANTONI Ferenc akadémikusnak és Prof.Dr.GRÁF Lászlónak a kutatásaim irányításában nyújtott szíves segítségükért.

HORVÁTH KÁROLY

I r o d a l o m

1. Andria G. és mtsai : *Pediatr. Res.* 14, 812, 1980.
2. Auricchio S. és mtsai : *Pediatr. Res.* 16, 1004, 1982.
3. Auricchio S. és mtsai : *Pediatr. Res.* 18, 1372, 1984.
4. Auricchio S. és mtsai : *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 121, 428, 1984.
5. Barresi G. és mtsai : 3rd Int. Symp. on Infant Nutrition and Gastrointestinal Diseases. Brussel, 1985. p.155.
6. Berg N.O. és mtsai : *Gastroenterology* 59, 575, 1970.
7. Berg N.O., Lindberg T.: *Acta Pediatr. Scand.* 68, 397, 1979.
8. Bernardin J.E. és mtsai: *J. biol. Chem.* 242, 445, 1967.
9. Brantl V. és mtsai : *Life Sciences* 28, 1903, 1981.
10. Brow J.R. és mtsai : *Gastroenterology* 60, 355, 1971.
11. Bürgin-Wolff A. és mtsai : *J. Pediatr.* 102, 655, 1983.
12. Cobden I. és mtsai : *Brit. Med. J.* 277, 1061, 1978.
13. Cooke W.T., Holmes C.K.T.: *Coeliac disease*. Churchill-Livingstone Edinburgh, 1984.
14. Cooper, B.T. és mtsai : *Brit. Med. J.* 276, 537, 1978.
15. Cornell H.J., Townley R.R.W.: *Clin. Chim. Acta* 43, 113, 1973.
16. De Ritis G. és mtsai : *Pediatr. Res.* 16, 1044, 1982.
17. Dohan F.C.: *Acta Psychiatr. Scand.* 42, 125, 1966.
18. Dicke W.K.: *Coeliac disease : Investigations on harmful effects of certain types of cereal on patients with coeliac Disease*. Doctoral thesis, Univ. of Utrecht, 1950.
19. Douglas A.P. és mtsai : *Gastroenterology* 59, 414, 1970.
20. Douglas A.P. és mtsai : *Digestion* 14, 29, 1976.
21. Falchuk Z.M. és mtsai : *J. Clin. Invest.* 51, 1602, 1972.
22. Falchuk Z.M. és mtsai : *ibid.* 53, 487, 1974.
23. Falchuk Z.M.: *Amer. J. Med.* 67, 1085, 1979.
24. Ferguson A., Murray D.: *Gut* 12, 988, 1975.
25. Fraser A.G. és mtsai : *Lancet* 2, 252, 1959.
26. Gráf L. és mtsai : *Orv. Hetil.* (közlés alatt)
27. Hamilton I. és mtsai : *Gut* 23, 202, 1982.
28. Harris O.D. és mtsai : *Amer. J. Med.* 42, 899, 1967.
29. Hekkens W.T.J.M. és mtsai : *Coeliac disease* (eds.: Hekkenš and Pena) Stenfert Kroese Leiden, 1974. pp.39.
30. Horváth K. és mtsai : *Lancet* 2, 184, 1985.
31. Horváth K. és mtsai : *Orv. Hetil.* 127, 317, 1986.
32. Hubble D., Littlejohn S.: *Arch. Dis. Childh.* 38, 476, 1963.
33. Jos J. és mtsai : *Clin. Chim. Acta* 119, 263, 1982.
34. Kagnoff M.P. és mtsai : *J. exp. Med.* 160, 1544, 1984.
35. Kasarda D.D. és mtsai : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 4712, 1984.

36. Katz A. és mtsai : New England J. Med. 295, 131, 1976.
37. Katz A., Falchuk Z.M.: Gastroenterology 75, 695, 1978.
38. Kendall M.J. és mtsai : Lancet 2, 1065, 1972.
39. Keuning J.J. és mtsai : Lancet 1, 506, 1976.
40. Kósnai I.: Gyermekgyógyászat 31, 381, 1980.
41. Kowlessar O.D.: Gastroenterology 52, 893, 1967.
42. Köttgen E. és mtsai : Biochem. Biophys. Res. Comm. 109, 168, 1982.
43. Krainick H.G. és mtsai : Helv. Paed. Acta 14, 124, 1959.
44. *Kumar P.J. és mtsai : Gut 14, 208, 1973.
45. Kumar P.J. és mtsai : Gastroenterology 86, 1147, 1984.
46. Marsh M.N.: J. Royal Col. Phys. London 17, 205, 1983.
47. McNeish A.S., Anderson C.M.: Clin. Gastroenterology 3, 127, 1974.
48. Mecham D.K. és mtsai : J. Sci. Food Agric. 32, 773, 1981.
49. Mohammed I. és mtsai : Lancet 2, 487, 1976.
50. Musumeci S. és mtsai : Eur. J. pediatr. 139, 306, 1982.
51. Mylotte M. és mtsai : Brit. Med. J. 266, 703, 1973.
52. O'Donoghue D.P. és mtsai : Gastroenterology 76, 1211, 1979.
53. O'Farrelly C. és mtsai : Brit. Med. J. 286, 2007, 1983.
54. Payan D. és mtsai : Life Science (közlésre elküldve)
55. Reunala T. és mtsai : Arch. Dis. Child.: 59, 517, 1984.
56. Rolles C.J. és mtsai : Lancet 2, 1043, 1973.
57. Saxon A. és mtsai : J. Clin. Invest. 61, 922, 1978.
58. Schaad V.B. és mtsai : Am. J. Dis. Child. 135, 272, 1981.
59. Schuzdziarra V. és mtsai : Diabetes 30, 362, 1981.
60. Scott H.: Scand. J. Gastroenterology 15, 81, 1980.
61. Scott, B.B., Losowsky M.S.: Clin. Exp. Immunol. 26, 243, 1976.
62. Selby W.S. és mtsai : Gut 22, 169, 1981.
63. Sjöström H. és mtsai : Clin. Chim. Acta 109, 53, 1981.
64. Strober W.: in Perspectives of coeliac disease. Lancaster MTP Press lim. 1978. pp. 169.
65. Verkasolo M.A.: Lancet 1, 1384, 1982.
66. Wahl S.M. és mtsai : J. Immunol. 115, 476, 1975.
67. Weiser M., Douglas A.P.: Lancet 1, 567, 1976.
68. Weiser H. és mtsai : Z. Lebensm. Unters. Forsch. 179, 371, 1984.
69. Zioudrou Ch. és mtsai : J. Biol. Chem. 254, 2446, 1979.
70. Bouwes F.R.: Lancet 2, 1353, 1976.
71. Ferguson A. és mtsai : Lancet 1, 895, 1975.

9th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON
BIOELECTROCHEMISTRY AND BIOENERGETICS

Venue: Szeged, Hungary

Dates: September 1-5, 1987

Address for correspondence:

Dr. L. Keszthelyi, Institute of Biophysics,
Biological Research Center of the Hungarian Academy of Sciences,
6701 Szeged, Hungary

INTERNATIONAL WORKSHOP
ON
STRUCTURAL AND FUNCTIONAL
ASPECTS OF THE
CHOLINERGIC SYNAPSE

To be held at

Neve-Ilan Guest House, near Jerusalem, ISRAEL
August 31 - Sept. 4, 1987

TERHESSÉGI ÉS PLACENTÁRIS FEHÉRJÉK

A terhesség során számos fiziológiás paraméter jelentősen megváltozik. Ezek közül egy gyakorlatilag is fontos csoportot képviselnek a szérumfehérjék. Régóta ismeretes, hogy az összfehérjeszint némi csökkenésén kívül az egyes komponensek saját koncentrációi lényegesen megváltoznak, sőt olyan fehérjék is megjelennek, amelyek korábban nem szerepeltek, vagy pontosabban, átlagos érzékenységgű módszerekkel nem voltak kimutathatóak. A szérumfehérjéknek ezt a csoportját Thornes 1958-ban (1), Smithies 1959-ben (2) egymástól függetlenül figyelték meg, és terhességi fehérjéknek, "pregnancy proteins"-nek nevezték el. Azóta egyre több fehérjét azonosítottak és soroltak ebbe a csoportba, így ma már célszerű eredetük szerinti csoportosításban ismertetni őket:

Lepényi eredetű fehérjék: humán choriális gonadotropin (HCG), humán placentáris laktogén (HPL), humán choriális thyreotropin (HCT), terhességre specifikus béta-1-glikoprotein (Schwangerschaftsprotein-1, SP₁), placenta protein 5, 10, 11, 12, 13, 17 (PP₅ PP₁₀ PP₁₁ PP₁₂ PP₁₃ PP₁₇), hőstabil alkalikus foszfatáz (HSAP), diamin oxidáz (DAO), placentáris releasing hormonok.

Terhességgel társult, anyai eredetű fehérjék: terhességgel társult alfa-2-glikoprotein (pregnancy associated alpha-2-glycoprotein, α_2 PAG), szexuálhormon-kötő globulin (SHBG), pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A), placenta protein 7, 8, 9 (PP₇, PP₈, PP₉).

Magzati eredetű fehérje: alfa-foetoprotein (AFP)

A felsorolás egyik csoportban sem tartalmazza az összes eddig ismert fehérjét, csupán a legfontosabb és részben már karakterizált komponenseket, melyek mennyiségi szempontból is a legjelentősebbek.

A terhességi fehérjék élettani szerepének tisztázása kezdettől fogva az érdeklődés középpontjában állt. A klinikailag is fontos probléma kísérletes megközelítése csak úgy lehetséges, ha rendelkezünk nagy érzékenységgű specifikus mérőmódszerrel, mellyel meg tudjuk határozni a fiziológias koncentrációkat. Ennek birtokában megvan a remény arra, hogy a kóros elváltozások egyes csoportjait ezen paraméter alapján észlelhessük. Egy további fontos terület az állatkísérletes analóg modellek keresése, mely lehetővé teszi a különböző ötletek experimentális kipróbálását.

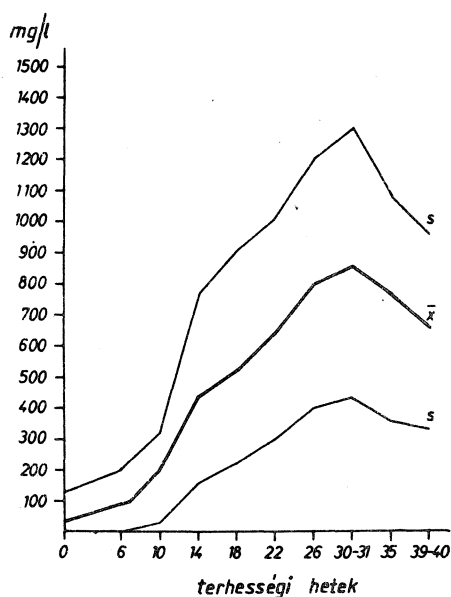
Munkacsoportunk 1973-ban alakult azzal a céllal, hogy az érdekesnek tartott irodalmi adatok, és a már korábban kifejlesztett fehérjevizsgáló módszerek birtokában megpróbáljunk csatlakozni a terhességi fehérjék kutatásához. Célunk az volt, hogy humán szérumból kiindulva izoláljuk az α_2 PAG fehérjét, majd specifikus mérőmódszert kifejlesztve tanulmányozzuk a fiziológias koncentráció viszonyokat.

Terhességgel társult alfa-2-glikoprotein (α_2 PAG)

A fehérjét gélszűréssel, anioncserélő kromatográfiával és preparatív poliakrilamid gélelektroforézissel 1974-ben sikerült tisztán előállítanunk más munkacsoportokkal majdnem egyidejűleg (3, 4). A készítmény homogenitását analitikai módszerekkel bizonyítottuk, és kérésünkre a mintákat azonosította H. Bohn (Behringwerke) és P. Sizaret (Nemzetközi Rákkutató Központ, Lyon). Később részt vettünk egy α_2 PAG WHO standard készítésében is. Meghatároztuk a fehérje fizikai-kémiai tulajdonságait. Molekulásúlya gélszűréssel 490000, mely redukció és SDS hatására alegységekre hasad. Ezek legkisebb egysége 88000-es molekulásúlyt mutat, így feltételezzük, hogy az eredeti molekula 4 db azonos típusú alegységből áll. A fehérje elektroforetikus mobilitása α_2 -globulin típusú, és izoelektromos pontja 4,8. Glikoproteid jellegét és szénhidrát összetételét Bohn az alábbiakban adja meg: hexóz 6%, hexózamin 3,7%, fukóz 0,06%, neuraminsav 2,4% (5).

Az izolált fehérje birtokában lehetővé vált monospecifikus antiszérum készítése, mellyel radiális immundiffúziós és Laurell

féle elektroforetikus mérő módszert állítottunk be. Ez utóbbi érzékenysége 2 mg/l, mely alkalmas a nem terhes minták mérésére is. Meghatároztuk az α_2 PAG szérumkoncentrációit különböző élet-tani körülmények között. A nem terhes nők 27%-ában egyáltalán nem találtunk pozitívítást, a többiek átlagban $26,1 \pm 12,5$ mg/l értéket mutattak. Férfiak 35%-át találtuk negatívnak, és a pozitív esetek átlaga $16,7 \pm 10,2$ mg/l volt. 425 egészséges terhes szérumát vizsgálva megállapítottuk, hogy az α_2 PAG mennyisége már a 6-7. gesztációs héten emelkedett értéket mutat, majd egyenletesen növekedve a 30-31. héten éri el a legmagasabb értéket ($863,2 \pm 443,4$ mg/l), majd ezt követően csökkenő tendenciát mutat. Szülés után a fehérje koncentrációja csökken, biológiai felezési ideje 7-9 nap (6).



1. ábra. Humán α_2 PAG szérumkoncentrációja egészséges terhességben.

Az α_2 PAG terhességi koncentrációja, mely a nem terhes átlag kb. 40-szerese, önmagában is elgondolkasztató, és indokolttá teszi a funkcionális célú vizsgálatok elvégzését. Korábbi kvalitatív megfigyelésekből ismeretes volt, hogy ösztrogének hatására az α_2 PAG koncentrációja emelkedik. Contraceptívumokat szedő nők, illetve ösztrogén terápiában részesülő ovariectomizált betegek vizsgálatával megállapítottuk, hogy a dienösztról, a dietilstilbösztrol és az ösztradiol jelentősen emeli az α_2 PAG szintet, míg az ösztron csak mérsékelten, az ösztriol pedig egyáltalán nem hatásos. Az ösztrogének tehát

indukálják a fehérje szintézisét, de maga az α_2 PAG közvetlenül nem reagál pl. radioaktív ösztrogénekkkel, azaz nincs carrier funkciója.

Az α_2 PAG szerepére vonatkozó kísérletek megkövetelik, hogy állati analóg modellt keressünk. A terhes rhesus majom széruma jól reagált az anti-humán α_2 PAG savóval, ezért feltételeztük, hogy a fehérje szerkezetileg is rokonságot mutat az emberi α_2 PAG-hoz. A humán α_2 PAG-hoz hasonló tisztítási lépésekkel 1977-ben izoláltuk az α_2 PAG analógot terhes rhesus majom szérumából. Meghatároztuk a fehérje fizikai-kémiai paramétereit, és fiziológias koncentrációit (I. táblázat) (7).

A majmokkal végzett kísérletek igen drágák és nehézkesek, ezért törekednünk kellett más fajokból álló kísérletes modellt keresni. Az anti-humán α_2 PAG savóval a terhes kutya széruma olyan kis mértékben reagál, hogy tesztelésre nem alkalmas. Immunizálási és kimerítési kísérletekkel Bohrnak 1978-ban sikerült anti-kutya α_2 PAG savót készíteni. Ennek felhasználásával 1979-ben gélszűréssel, ioncserélő kromatográfiával és preparatív izoelektromos fókuszálással izoláltuk a kutya α_2 PAG analógját. Grádiens elektroforézissel észleltük, hogy az izolált fehérje két egymáshoz közeli futású komponensből áll. Sikerült ezeket egymástól szeparálni és bizonyítani, hogy immunológiailag azonos értékű variánsok (8).

I. táblázat. α_2 PAG analógok összehasonlítása

	Humán	Majom	Kutya
Molekulasúly gélszűréssel	490 000	510 000	420 000
Molekulasúly SDS elektroforézissel	160 000 88 000	83 000	195 000
Izoelektromos pont	4,8	4,9	5,1
Elektroforetikus mobilitás	α_2	α_2	α_2
Szérum koncentráció mg/l	26,1 \pm 12,5	144-222	305 \pm 185
Szérum koncentráció mg/l	16,7 \pm 10,2	280	218 \pm 107
Szérum koncentráció terhességben mg/l	863 \pm 443 31. héten	nem emelkedik szignifikánsan	1460 \pm 653 6. héten

A különböző fajokból izolált α_2 PAG analógok tulajdonságait összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a gélszűréssel mért molekulaméret közel azonos. Mindhárom fehérje glikoproteid kb. 10% szénhidrát-tartalommal. A gélszűréssel mért molekulásúly az ilyen összetett fehérjéknél gyakran mutat eltérő értéket a szedimentációs analízis eredményéhez képest. Ezt a jelenséget Stimson a humán α_2 PAG esetében kísérletesen is bizonyította (9). Így ma általánosan ezen utóbbi módszer értékét fogadjuk el, ami az emberi fehérjénél 360000-nek adódott. Ezzel összhangban van az SDS elektroforézissel mért alegység molekulásúly, mely enyhébb redukcióra dimér szerkezetet, erősebb redukcióra homológ tetramér szerkezetet mutat. Így az egyes fajok analóg proteinjai az alegység szerkezetben is hasonlóak egymáshoz, továbbá elektrokémiai paramétereik gyakorlatilag azonosak. A szérumban mért koncentrációk viszont lényegesen különböznek, nevezetesen a nem terhes nőstények, illetve a hím állatok értékei nagyságrenddel haladják meg az embernél mért szintet. Ugyancsak szembetűnő jelenség, hogy rhesus majomnál a gesztáció ideje alatt nincs szignifikáns emelkedés, mely megfigyelést más szerzők is közölték (10). Mindezek ellenére úgy érezzük, hogy a kutya alkalmas kísérleti modell lehet az α_2 PAG további kutatásában.

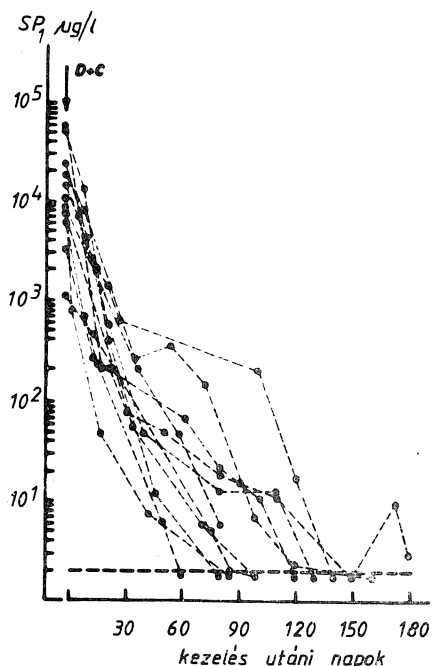
Terhességre specifikus béta-1-glikoprotein (SP₁)

Az SP₁ jelenlétét több szerző egymástól függetlenül észlelte, míg izolálása és karakterizálása Bohnnak sikerült 1972-ben (11). A β -globulin motilitású fehérje molekulásúlya 90000, és jelentős mennyiségű szénhidrátot tartalmaz az alábbi összetételben: 11,7% hexóz, 10,2% hexózamin, 0,6% fukóz és 6,8% neuraminsav. A molekula izoelektromos pontja 4,1. Mint fehérje meglehetősen stabil, kevésbé hőérzékeny, és az SDS elektroforetikus analízisek szerint egy polipeptid láncból áll.

Az SP₁ szérumszintje a terhesség során lényegesen emelkedik, a 40. héten átlagban megközelíti a 200 mg/l-es értéket, így Laurell féle elektroforézissel jól mérhető. A fehérje placentáris eredete és jó mérhetősége miatt klinikai alkalmazása már az első publiká-

ciók után olyannyira fontosnak tűnt, hogy munkacsoportunk klinikus tagjai részletesen kidolgozták az SP_1 és a kóros terhességek viszonyát, és a méréseket azóta is alkalmazzák a klinikai rutinban. A tapasztalat szerint az SP_1 szint csökkenése időben jelzi a foeto-placentáris funkciók romlását, és további célzott vizsgálatokat, vagy beavatkozást indikál (12).

A koraterhességi események követése, valamint a placentáris eredetű tumorok tanulmányozása megkövetelte, hogy a Laurell elektroforézisnél érzékenyebb mérő módszert fejlesszünk ki. Ezért az anti- SP_1 IgG-t Protein-A Sepharose kromatográfiával izoláltuk és dimetil-szuberimidát segítségével peroxidázzal konjugáltuk. Az így beállított ELISA $1 \mu\text{g/l}$ -es érzékenysége lehetővé tette, hogy a módszert felhasználjuk a mesterséges inseminációk eredményességének megítélésére. Azt tapasztaltuk, hogy az SP_1 koncentrációja az inseminációt követően már a 14-21. napon emelkedést mutat, és olyankor is meggyőző eredményt ad, amikor a terápiásan adott exogén HCG a korábban ismert eljárásokat zavarja.



2. ábra. Az SP_1 szint változása a mola hydatidosa eltávolítása után

A nagyérzékenységgű SP_1 mérés különleges jelentőséggel bír a trophoblast eredetű tumoros elváltozások nyomon követésében. Ugyanis az SP_1 fehérjét nemcsak egészséges placenta sejtek, hanem a kórosan elfa-jult társaik is termelik, így a szérumba került SP_1 koncentrációja bizonyos arányban áll ezen sejtek mennyiségével. A 2. ábrán láthatjuk, hogy 11 betegnél hogyan alakult a szérumszint a mola hydatidosa eltávolítása után. Az SP_1 a HCG-hez hasonlóan érzékenyen jelzi a reziduális tumort, és a recidiva klinikai megjelenése előtt felhívja a figyelmet a kezelés hatékonyabbá tételére. Tapasztalataink szerint a két fehérje nem mindig változik paralell,

sőt egyes betegeknél kizárólag az SP₁ jelzi a tumor kiújulását (13).

Placenta proteinek

H. Bohn 1971 óta foglalkozik a placenta eredetű fehérjék szervspecifikus vizsgálatával. Kezdetben a szerv extractumával nyulakat immunizált, majd megfelelő kimerítés után, mintegy 40 placenta specifikus proteint figyelt meg. Később ezek közül mintegy 30 fehérjét tiszta formában is előállított, és leírta főbb paramétereiket (14). Azokat a fehérjéket, amelyek fiziológias NaCl-dal kivonhatóak "placenta protein"-eknek nevezte el és sorszámmal különbözteti meg (PP₁, PP₂ stb.). A fehérjéknek azt a csoportját, amelyet csak detergens képes oldatba vinni "membrane-associated protein"-eknek jelöli, és MP₁, MP₂ stb. módon rövidíti. Legutóbbi összefoglaló művében a PP sorozat 21, az MP sorozat 7 komponensét ismerteti annak kihangsúlyozásával, hogy nem mindegyik fehérje bizonyult placenta specifikusnak (14). Más esetben az újonnan leírt fehérjét azonosnak találták egy már ismert fehérjével, pl. a PP₂ tulajdonképpen a ferritin lepényi változata, a PP₇ pedig azonos a glutati-on S-transzferáz enzimmel, továbbá az MP₁ nem más, mint a hőstabil alkalikus foszfatáz membránhoz kötött része. Ezek a kritikai észrevételek magától a szerzőtől származnak, és nem kisebbítik érdekeit, mert a fehérjék 80%-a eddig ismeretlen, és a további kutatások szempontjából perspektivikus.

A placenta proteinek vizsgálatába 1980-ban kapcsolódtunk be, amikor H. Bohn - tudományos kollaboráció keretében - rendelkezésünkre bocsátotta a sorozat alábbi tagjait: PP₅, PP₁₀, PP₁₂, PP₁₃, PP₁₄, PP₁₇, PP₁₈, azzal a céllal, hogy megfelelő radioimmunoassay-t fejlesszünk ki, és határozzuk meg a fehérjék élettani koncentrációit, illetve kíséreljük meg a diagnosztikus alkalmazás határainak megfogalmazását (II. táblázat).

Jelen munkában csak azokat a fehérjéket részletezzük, amelyek adatai publikálható stádiumban vannak (5, 10, 12, 13, 17). Az összes vizsgált placenta protein esetében a radioimmunassay-t ¹²⁵I jelöléssel kezdtük, melyet laktoperoxidáz és H₂O₂ segítségével végeztünk. Ezután a szokásos módon beállítottuk a mérőrendszert, melynek érzékenysége 1-10 µg/l közötti értéket adott.

II. táblázat. Az általunk vizsgált placenta proteinek tulajdonságai

Név	elektroforetikus mobilitás	molekulasúly	szénhidrát-tart. %	mg fehérje/ /placenta
PP ₅	β_1	36600	19,8	1,5
PF ₁₀	α_1	48000	6,6	20
PP ₁₂	α_1	25200	4,3	5
PP ₁₃	albumin	30000	0,6	3,7
PP ₁₄	$\alpha_2 - \alpha_1$	43000	17,5	4,8
PP ₁₇	$\alpha_2 - \beta_1$	30300	2,1	2,5
PP ₁₈	β_1	82300	2,3	2

Kontrollnak egészséges véradók mintáit, terhes értéknek az egyéb szűrővizsgálatok céljára levett szérum mintákat használtuk. Így lehetővé vált az ún. normál terhességi koncentrációgörbe felvétele, mely alapot nyújthat a kóros minták összehasonlító elemzésére (15).

A radioimmuncassay segítségével meghatároztuk a PP₅ koncentrációjának változását az egészséges terhesség folyamán. A nem terhes nők széruma gyakorlatilag negatív, és csak a terhesség 7-8. hetében válik mérhetővé. Ezt követően a PP₅ szintje megközelítőleg egyenletesen - a lepény súlyának növekedéséhez hasonlóan - emelkedik a terminusig, amikor eléri a 27 $\mu\text{g/l}$ -es értéket. Szülés után igen gyorsan eliminálódik, biológiai felezési ideje 1-2 óra.

A PP₁₀ esetében a nem terhes nők széruma 30%-ban negatív volt, a többiek átlaga $2,3 \pm 2,2 \mu\text{g/l}$. Férfiaknál 48%-ban találtunk PP₁₀ reaktivitást $0,98 \pm 2,6 \mu\text{g/l}$ között. Egészséges terhesség során a PP₁₀ koncentrációja fokozatos emelkedés után a 35-36. héten éri el a maximumát ($26,3 \pm 13,6 \mu\text{g/l}$), majd a terminusig csökken $18,4 \pm 6,7 \mu\text{g/l}$ -re. Szülést követően biológiai felezési ideje 2,5 nap.

Mérhető PP₁₂-koncentrációt a nem terhes kontrollok 74%-ában találtunk ($26,2 \pm 13,7 \mu\text{g/l}$). Férfiak 52%-ában $23,6 \pm 11,2 \mu\text{g/l}$ középértékű PP₁₂ szintet találtunk. Egészséges terhességben már a 7-8. héten szignifikáns emelkedést észleltünk. Az előző fehérjéktől el-

térően a legmagasabb érték viszonylag korán, a 18. héten mérhető ($137,5 \pm 53,5 \mu\text{g/l}$), majd csökkenő tendencia után a $100 \mu\text{g/l}$ -es szinten marad egészen a 34. hétig. Ezután a 37-38. héten egy újabb maximum észlelhető $130 \mu\text{g/l}$ körüli értékkel. Szülést követő biológiai felezési ideje 1 nap. Külön figyelemre méltó, hogy a PP_{12} mennyisége a magzatvízben nagyságrendekkel magasabb. 260 minta mérésével megállapítottuk, hogy a magzatvízben a PP_{12} koncentrációja gyors emelkedés után a 21. héten éri el a maximumát $51,6 \pm 26,4 \text{ mg/l}$ -es átlagban, mely az azonos korú szérumhoz képest 400-szor magasabb. Ezt követően a terminusig egyenletesen csökken kb. 20 mg/l -es szintre.

A PP_{13} -at sem a kontroll, sem terhességi szérumokból, sem magzatvízből nem sikerült kimutatni. A PP_{17} a kontrollok szérumában igen kis mennyiségben van jelen, s a terhesség alatt mintegy megduplázódva kb. egy szinten marad a szülésig. Ezért utóbbi két placentáris protein további vizsgálata a testnedvekből nem indokolt.

A terhességi és placentáris fehérjék további kutatásai várhatóan az életteni szerep tisztázására fognak irányulni. Ezen a téren - kevés kivételtől eltekintve - szinte még a kezdeti, irányt adó ismeretek is hiányoznak, vagy nem bizonyíthatóak. Az általunk vizsgált fehérjék közül az $\alpha_2\text{-PAG}$ -ra vonatkozóan 1985-ben jelent meg közlemény, mely alapos kísérletek alapján feltételezi, hogy az $\alpha_2\text{-PAG}$ fő szerepe a sejtekből kiszabaduló proteínázok aktivitásának szabályozása (16). Így az is érthető, hogy ez a fehérje funkcionálisan ekvivalens a más fajokban "akut fázis" proteinnak nevezett α_2 -makroglobulinokkal. A PP_5 hatására számos kísérletes bizonyíték van, mely szerint a fehérje - szabályozó módon - részt vesz a véralvadás regulációjában, illetve a placentáris keringés irányításában (14). Meggyőződésünk, hogy a csoport többi tagjáról is olvashatunk a közeli jövőben megjegyzésre érdemes adatokat.

Irodalom

SZABÓ DÉNES

- 1.) Thornes, D.R., M.D. Thesis, University of Dublin, 1958.
- 2.) Smithies, O., Advances in Protein Chemistry 14, 65-113, 1959.
- 3.) Stimson, W., L. Eubank-Scott, FEBS Letters 23, 289-302, 1972.
- 4.) von Schoultz, T. Stigbrand, Acta Obstet. Gynec. Scand. 52, 51-57, 1973.

- 5.) Bohn, H., W. Winckler, *Blut* 33, 377-388, 1976.
- 6.) Than, G., I. Csaba, D. Szabó, *Lancet* ii, 1578-1579, 1974.
- 7.) Szabó, D., G. Than, I. Csaba, *IRCS Med. Sci.* 5, 476, 1977.
- 8.) Szabó, D., P. Gócze, G. Than, in *Pregnancy Proteins in Animals*, Ed. Jann Hau, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1985.
- 9.) Stimson, W., D.M. Farquharson, *J. Biochem.* 9, 839-843, 1978.
- 10.) Lin, T.M., S.P. Halbert, R. Plasencia, *Clin. exp. Immunol.* 26, 609-622, 1976.
- 11.) Bohn, H., *Blut* 24, 292-302, 1972.
- 12.) Karg, N., I. Csaba, G. Than, A. Arany, D. Szabó, *Arch. Gynecol.* 231, 69-73, 1981.
- 13.) Than, G., I. Csaba, H. Bohn, D. Szabó, *Oncodevelopmental Biology and Medicine* 3, 315-323, 1982.
- 14.) Bohn, H., in *Proteins of the Placenta*, Ed. P. Bischof, A. Klopffer, Karger, Basel, 1985. p. 1-25.
- 15.) Szabó, D., G. Than, Z. Bognár, *IRCS Med. Sci.* 9, 626, 1981.
- 16.) Sand, O., J. Folkersen, J. Westwrgaard, L. Sottrup-Jensen, *J. Biol. Chem.* 260, 15723-15735, 1985.



BIOCHEMICAL EDUCATION 14(3) 1986

EDITORIAL

Posters Through Bifocals

A textbook of Medicine states that 'In middle age presbyopia is almost invariable and requires eye refraction and spectacles'. So I and my contemporaries must either flip on spectacles for reading or use bifocals. An unfortunate consequence of presbyopia is the inability to read posters at meetings.

Most posters are headed by titles and names of authors in very large type, but the rest of the poster consists too often of closely typed (on an ordinary typewriter) wordy manuscript pages with small complicated tables and overly detailed graphs pinned to the poster board in confusing numbers. Posters are merely vertical versions of a journal paper. They are illegible, especially to us senior citizens with bifocals. I try to read a poster from a distance, but the print is too small. I move closer to read the type through the near-vision part at the bottom of my spectacles. This forces me to arch my head back to see the words near the top of the poster and to genuflect to see those at the bottom. If the author is close by I ask for an explanation. If not, I give up the struggle and move on to the next one. At a recent Federation Meeting only a handful of the literally hundreds of posters could be read at a distance of one meter. In marked contrast to the posters were the displays by commercial exhibitors at the same meeting. Exhibitors know that the message must be transmitted quickly and clearly. They use terse explicit language, color and large type effectively. All the exhibits were comfortably legible through my bifocals. We scientists have much to learn from the sellers of our supplies and equipment.

What can be done to improve posters? Training in good postership must begin early in the career of students. The instructors should be advertising or audiovisual experts, not scientists. Scientists would merely perpetuate the bad postership they learned from their mentors.

If the societies were to insist that their instructions must be followed, then most posters would be legible. The instructions issued by meeting organizers typically advise that . . . your poster must be readable at distances of 1 meter or more. Illustrations should be similar to those used to make slides, but preferably should be cruder and more heavily drawn. They should not be 'arty'. Use color for emphasis. Lettered material should contain appropriately heavy lettering at least 1 cm high. Typed material should be typed on a Bulletin (large type) typewriter. Keep illustrative material simple. Societies could also reward good posters with substantial prizes and publicity to encourage others to emulate the best. If used correctly, posters are visual tools of great power to communicate. Posters can be self-explanatory messages, to be appreciated even in the absence of the author, even by middle-aged biochemists with bifocals.

Murray Saffran

*Department of Biochemistry
Medical College of Ohio
Toledo, Ohio, 43699 USA*

Két éves ösztöndíjon a Harvard Orvosegyetemének Sejtbiológiai Tanszékén

Amint korábbi levelemben már hírt adtam róla (BIOKÉMIA 9/3/127, 1985), a bostoni Harvard Orvosegyetem ösztöndíjasaként két évig dolgoztam az egyetem Sejtbiológiai Tanszékén. Munkám lényegében a következő három témára összpontosult :

1. Az egér C2(a komplementrendszer 2.komponense) cDNS klónjának izolálása egy májból készített géntárból; a klón szekvenálása és a specifikus cDNS próbaként való felhasználása a gén polimorfizmusának vizsgálatában.

A gén 3'végének részletes szekvencia-adatai birtokában jelentős (75-80%) homológiát tapasztaltunk az emberi C2 génnel. Első eredményeink egy újonnan izolált teljes hosszúságú cDNS klónra vonatkozóan szintén rendkívül nagymértékű bázis-sorrend hasonlóságra, azaz jelentős filogenetikai konzervativizmusra mutatnak.

Egy 800 és egy 250 bázispárból álló PstI fragmentumot használva beltenyésztett (ismert haplotípusú) és vad egértörzsek C2 génjeinek DNS polimorfizmusát is vizsgáltuk restriktív fragment hosszúság polimorfizmus (RFLP) módszerrel. Így számos új - fehérjeszinten nem megnyílvánuló - genetikai markert írtunk le. Felhasználva a rendelkezésre álló B faktor és C4 (a komplement - rendszer két, "korai" tagja) cDNS próbákat is, a vad egértörzsek nagy hisztokompatibilitási régiójának ún. S szakaszában, olyan genetikai osztályozást tudtunk megvalósítani, amely eddig nem volt lehetséges. Ugyanis nagy valószínűséggel az egymás mellett található C2-Bf illetőleg a C4 gének variánsai együttesen, egy genetikai egységként öröklődnek. E feltételezés alól találtunk néhány kivételt, itt az eddig nem igazolt intra-S rekombinációs esemény volt valószínűsíthető.

2. Részletesen vizsgáltuk a C2, Bf és az S régiókon kívül kódolt C3 és C5 gén kifejeződését különböző egértörzsekben és ezek különböző szöveteiben. Mindegyik komponens esetében rendkívül éles szövetspecifikus génkifejeződési eltéréseket találtunk mind az alapszintek, mind pedig a stimulált (IL-1, endotoxin, interferon) állapotok esetén. Megállapítottuk, hogy ugyanazon sejttípus - makrofág - eltérő szöveti környezetben (pl. vese, lép, tüdő, hasúr) teljesen különböző, gyakran ellentétes irányban fejezi ki ugyanazon géneket. Nyilvánvalóvá vált például, hogy a C2 gén vesében és tüdőben található makrofágokban élénken reagál külső gyulladási ingerekre, lépben, illetve májsejtekben a C2 gén kifejeződése nem változik. Sikerült egy olyan egértörzset kiválasztanunk, ahol a Bf gén májsejtekben állandóan bekapcsolt állapotban van és külső stimuláció nélkül is maximális Bf mRNS transzkripciót mutat. Bizonyítottuk, hogy egy bizonyos genetikai háttér mellett a C3 gén kifejeződése IL-1 hatására májsejtekben és lép-makrofágokban csökken, szemben minden vizsgált egyéb egértörzsszel, ill. szöveti környezettel. Folyamatban van a C2 és Bf, valamint a C3 gén promoter régióinak izolálása egy genomikus géntárból és a szöveti tényezők transzkripciót szabályozó hatásának további molekuláris vizsgálata.

C5 hiányos egértörzsek génátírását vizsgálva bizonyítható volt, hogy a "hiba" az elsődleges C5mRNS feldolgozásában van, más

szóval a citoplazmába kikerült mRNS-ben megtalálhatók egyes - normális esetben még a magban kivágandó - részek, és emiatt a specifikus mRNS nem működőképes.

3. A Mayo klinikával való együttműködés keretében kísérletes arthritésre hajlamos és normál egértörzsek ízületi makrofág és májsejt komplement génexpresszióját tanulmányoztuk bakteriális endotoxin adagolás után. Előzetes eredményeink arra utalnak, hogy az ízületi membrán makrofágjaiban a C3 és C4 gén kifejeződésének alapszintje lényegesen eltér (az arthritésre hajlamos törzsből magasabb), míg az endotoxin-adagolás nyomán a specifikus mRNS mennyiségének emelkedése hozzávetőlegesen azonos. A továbbiakban egyes - feltehetőleg a betegségre „hajlamosító” - géneknek a pe-tesejtbe való beültetésével nyert „transzgenetikus” egereken fogjuk a kísérleteket folytatni.

Remélem, a Bostonban szerzett elméleti és gyakorlati tapasztalataimat itthon is hasznosítani tudom és alkalmam nyílik a módszerek (DNS, RNS-izolálás, biotinos jelzések, southern és northern blot, hibridizáció, stb.) átadására - minden érdeklődőnek.

FALUS ANDRÁS

XX

The International Symposium BIOTECH RIA 87 on "BIOTECHNOLOGY IN CLINICAL MEDICINE" will be held in Rome (Italy), at the Hotel Cavalieri Hilton International, on April 13-15, 1987.

List of the sessions:

- Biotechnology in Cardiovascular Diseases
- Towards New Vaccines and Immunodiagnostics
- Bioactive Carriers
- Current Trends in Biotechnology

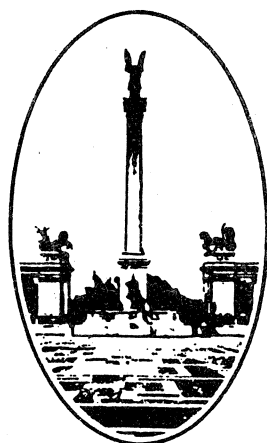
FONDAZIONE GIOVANNI LORENZINI

Via Monte Napoleone, 23

20121 Milan (Italy)

Phone: (02) 70.22.67 / 78.38.68

BIOTECH
RIA '87



International Brain Research Organization
World Federation of Neuroscientists

**SECOND WORLD
CONGRESS
OF NEUROSCIENCE**



**AUGUST 16-21, 1987
BUDAPEST, HUNGARY**



BUDAPEST CONVENTION CENTRE

SATELLITE SYMPOSIA

Those who are interested in organizing Satellite Meetings please contact

Prof. E. S. Vizi, General Secretary
Institute of Experimental Medicine
Hungarian Academy of Sciences
H-1450 Budapest, P.O.B. 67
Hungary

CORRESPONDENCE

Second World Congress of Neuroscience
Congress Secretariat
H-1476 Budapest, 100
P.O.B. 40
Hungary
Telex: 22-7836
Tel.: (36)-1-141-866

FEBS MEETING NEWS

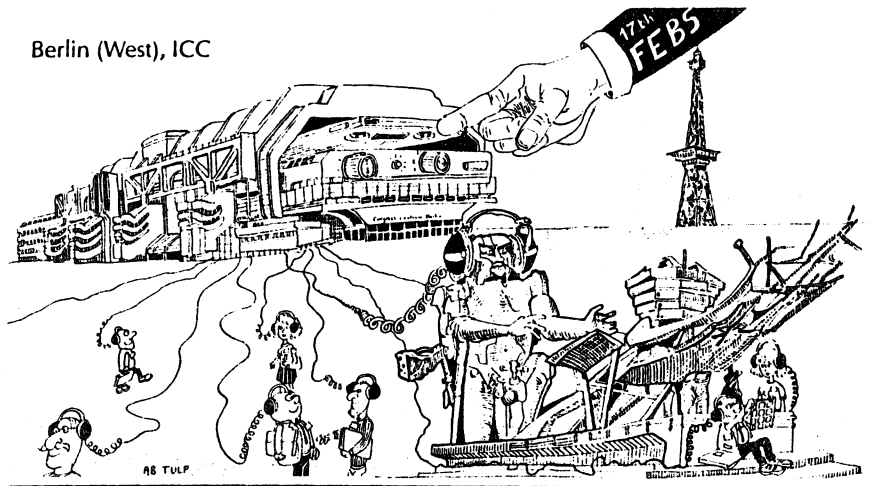
'86

The International Congress Center ICC

With a total of 80 halls and rooms the ICC Berlin is Europe's most modern conference venue. With a length of 320 and a width of 80 meter it can seat up to 20 300 people.

"Ecbatane" - "Man builds his city", this is the name the French artist Jean Ipousteguy gave to his sculpture which dominates the forecourt of the ICC. In his work the artist sees "mankind" itself, building its city which is spread out below, and on which the builders are still working.

Berlin (West), ICC



EGYESÜLETÜNK vezetősége

- az előző évekhez hasonlóan - mindent megtett annak érdekében, hogy elősegítse tagjai részvételét a 17.FEBS kongresszuson. A sok nehézség ellenére végül mégis sikerült 38 tagtársunknak az Egyesületünk által szervezett társasutazás révén eljutni a találkozóra. Köztük tíznek - a meghirdetett pályázat nyomán - Egyesületünk anyagi támogatásával: DOMBRÁDI Viktor (DOTE Orvosi Vegytani Intézet), FARKAS Ilona (DOTE Orvosi Vegytani Intézet), MINK Mátyás (JATE Mikrobiológiai Intézet), SOLTI Magda (MTA Enzimológiai Intézet), PORPÁ CZY Zoltán (POTE Biokémiai Intézet), BERCZ Zsuzsa (MTA KKKI), FORGÁCS Andrásné (Phylaxia), PETHŐ Árpád (MTA KKKI - Chinoip), NEMCSÓK János és Lehoczkyne SIMON Mária (JATE Biokémiai Intézet). A vállalati, egyetemi és akadémiai kutatóhelyekről hivatalos kiküldetéssel érkezettekkel együtt a regisztrált magyar résztvevők száma - a kongresszusi iroda kimutatása szerint - 72 (!) volt. A FEBS 25 tagállama közül hazánk a 9.helyet foglalta el - közvetlenül Hollandia mögött (73) - a nagy létszámú küldöttségek sorában. A szocialista államok közül a Szovjetunió és Lengyelország 60-60, az NDK 55, Jugoszlávia 51, Csehszlovákia 39, Bulgária 20, Románia 12 regisztrált résztvevővel volt jelen. 5 kontinens 42 országából 2678 regisztrált résztvevő érkezett Nyugat-Berlinbe.

A Kongresszusi iroda tájékoztatása szerint 39 országból 1519 előadáskivonatot küldtek be, hazánkból 44-et. VENETIANER Anikó (MTA SzBK Biokémiai Intézet) személyében az egyetlen meghívott magyar előadót üdvözölhettük. A kongresszus lebonyolítása tanulókkal szolgálhat az 1990-es budapesti FEBS-találkozó rendezői számára is, ha nem is mindenben.

A FEBS Council Meeting-en DÉNES Géza, a soronkövetkező FEBS-kongresszusok tárgyában tartott tanácsülésen DÉNES Géza és FRIEDRICH Péter képviselte Egyesületünket. (-yl-)

FEBS MEETING NEWS



In Memoriam Professor Dr. Fritz Lipmann

It is most regrettable that Fritz Lipmann passed away, after a short illness, a month ago on July 24, aged 87 years. Fritz Lipmann's major contribution to biochemistry was the formulation of the general rules for biotechnology of energy transmission. At this meeting he wanted to deliver a lecture entitled: A comparison of sulfation and phosphorylation of proteins. He was one of the very few contemporary scientists who sustained a position of leadership for such a long period in this explosively developing and versatile science.



From the Chairman of the FEBS Fellowships Committee:
Dr. C. Gancedo

REPORT OF THE FELLOWSHIPS COMMITTEE FOR 1985

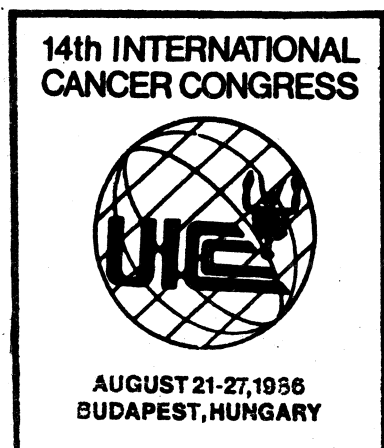
During 1985 the Committee handled 71 application that complied with the requirements established in the Guidelines. Fifty Fellowships were awarded but one applicant withdrew his application. A detailed relation of names, countries and research topics is joined. Twenty applications were rejected. This makes a rejection rate of 28 % (that of 1984 was 27 %). The mean stay time of this year was 47 days (50 in 1984). The average spent per Fellowship was 3700 DM so that the total amount spent was 94 % of the budget.

The distribution of Fellowships among countries was as follows :

Country	Total days	Fellowships
France	407	9
Hungary	360	6
Czechoslovakia	352	7
Spain	270	6
Poland	120	3
USSR	120	2
Belgium	90	2
Bulgaria	90	1
Sweden	81	2
Federal Republic Germany	60	1
Rumania	60	1
Turkey	60	1
Yugoslavia	60	1
Netherlands	44	2
Great Britain	35	1
Italy	30	1
Portugal	29	1
Ireland	28	1
Finland	18	1

The number of Fellowships awarded increased 29% with respect to 1984.

A hat magyar ösztöndíjas egyenként 60-60 napot töltött a következő városokban : Berényi M. (Párizs), Enyedi A. (Zürich), Novák B. (Edinburgh), Ovádi J. (Madrid), Pósfai J. (Heidelberg), Simon J. (Cambridge).



A Nemzetközi Rákellenes Unió (UICC) megbízásából a Magyar Onkológusok Társasága rendezte az eddigi legnagyobb méretű világkongresszust hazánkban. A kongresszus elnöke LAPIS Károly akadémikus, főtitkára ECKHARDT Sándor volt. A világtalálkozó Tudományos Programbizottságán belül a sokrétű kísérletes rákkutatás területéhez tartozó daganatbiokémiai és molekuláris biológiai kutatásokat külön albizottság gondozta. Ennek tagjai ANTONI Ferenc, Damjanovich Sándor, FÓNAGY Anna, HIDVÉGI Egon, HOLLAND József, HOLCZINGER László, JENEY András és PRAJDA Noémi voltak. A poszter-szekciókon kívül ez a bizottság

tett javaslatot a molekuláris biológiai terület plenáris előadójára, továbbá IZ szekciót szervezett. 4 onkogén szekció programjának összeállításában együttműködött a Tumorbiológiai és Víruskarcinogenezis albizottsággal. Szervező munkáját a következőkben mutatjuk be vázlatosan.

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

Molecular Biology of Cancer Cell Nuclei.

H. Busch (Houston), I. Financsek (Budapest)

Anti-Oncogenes, Suppressor Elements and Oncogene Regulatory Sequences.

G. Klein (Stockholm), J. Minarovits (Budapest)

Growth Factors, Receptors and Oncogenes.

F. Marke (Heidelberg), M. Kellermayer (Pécs)

Lymphoid Tumors as Model Systems for Studies of Immunoregulation and Lymphocyte Development - R. P. Perry (Philadelphia), I. Andó (Szeged)

K e r e k a s z t a l - k o n f e r e n c i á k

Chromatin Structure and Function.

R. Tsanev (Sofia), K. Smetana (Prague)

DNA Replication and Repair.

P. C. Hanawalt (Stanford), M. Staub (Budapest)

Metabolic Pathways and Regulation in Cancer Cells.

F. M. Huennekens (La Jolla), J. Janne (Helsinki)

Molecular Basis of Magnetic Resonance Imaging in Research and Diagnosis of Cancer. - C. F. Hazlewood (Houston), M. Sentjurc (Ljubljana)

Protooncogenes and Oncogenes Products : Structure, Function and Control of Normal and Malignant Growth.

T. S. Papas (Frederick), Gy. Hadlaczky (Szeged).

P a n e l - d i s z k u s s z i ó k

Role of Prostaglandins in Cancer.

A. Bennett (London), J. Holland (Budapest)

Membranes in Cancer Cells III.: Biophysical and Molecular Aspect of Tumor Cell Surface. - A. Aszalos (Washington), S. Damjanovich (Debrecen)

Biochemical Phenotypes of Animal and Human Tumors.

J. G. Cory (Tampa), N. Prajda (Budapest).

A felsoroltakon kívül biokémiai szempontból több érdekes szekciót rendezett a JENEY András és OLÁH Edit által vezetett albizottság (membránok, glikoproteinek, stb.) Oncogene Function and Regulation címmel a Tumorsejtbiológiai albizottság önálló szimpozionumot is szervezett, amelynek elnöke és reprezentatív előadója a kromoszóma transzlokáció mechanizmusának felderítésében világhírűvé vált CARLO CROCE (Philadelphia) volt.

Az alábbiakban az egyes szekciók magyar társelnökeinek rövid beszámolóit olvashatják.



HIDVÉGI EGON



14th International Cancer Congress

MOLECULAR BIOLOGY OF CANCER CELL NUCLEI

Három előadás a tumorsejtben komplex módon megváltozott génexpresszióval foglalkozott. H.BUSCH a nukleoláris antigének több csoportját jellemezte. Közülük egyesek a sejtciklus meghatározott fázisában mutathatók csak ki, mások a sejtciklustól függetlenül csak daganatos sejtek nukleoluszában fordulnak elő és részben fajspecifikusak. Human homeotikus gének kifejeződését vizsgálta E.BONCINELLI SV-40 transzformált sejtekben és megállapította, hogy nemcsak a transzkripcióban, hanem a transzkripció módosításában is eltérés van a normál és tumorsejt között. H.ENDO és munkatársai olyan gént izoláltak patkánytumorból, melynek kifejeződését tumorsejtben, embrionális szövetekben és regeneráló májban kimutatták, felnőtt normál szövetekben azonban nem. A gén jelen van több fajban, köztük emberi sejtekben is.

Három előadás az emlős riboszóma RNS gének transzkripciójával foglalkozott. M.MURAMATSU és munkatársai a transzkripció komplex kialakulását, az egyes transzkripció faktorok kötődési sorrendjét és a kötődést befolyásoló fajspecifikus és nem fajspecifikus szekvenciák szerepét tisztázták. S.JACOB a riboszóma RNS gén transzkripcióját 10-20-szorosára növelő, a promotertől -2 - -5 kb távolságban elhelyezkedő „enhancer szekvenciát” talált. Ebben a régióban vannak azok az in vitro tulérezékeny szekvenciák, amelyeket FINANCSEK és munkatársai patkány és emberi rDNS-ben mutattak ki.

Összefoglalva azt állapíthatjuk meg, hogy bár számos gén kifejeződését megváltozottan találták normál és tumor sejtekben, e változások részvételét és jelentőségét a neoplasztikus transzformációban ma még nem vagy csak igen kevésbé ismerjük.

FINANCSEK ISTVÁN



ANTI-ONCOGENS, SUPPRESSOR ELEMENTS AND ONCOGENE REGULATORY SEQUENCES

Ez a G.KLEIN professzor által kezdeményezett szimpozionum a kongresszusnak egyik legnagyobb érdeklődéssel kísért eseménye volt. Ismeretes, hogy az RNS tumor vírusok daganatkeltő hatásáért felelős virális onkogének megfelelői a normális eukarióta sejtekben is megtalálhatók (celluláris onkogének). A daganat-

keletkezés jelenleg legelfogadottabb elmélete szerint a sejtek rosszindulatú (malignus) viselkedéséért részben onkogének aktivációja, részben a működésüket szabályozó gének (az anti-onkogének) kiesése, inaktiválódása tehető felelőssé.

A szimpozionon beszámoltak az antionkogének kimutatására alkalmas módszerekről : sejtfüzióval, kromoszóma-átvitellel, DNS-transzfeccióval a daganatsejtek viselkedése megváltoztatható, az onkogének hatása szuppresszálható. Ismertették két olyan gén izolálását és klónozását, amelyek képesek helyreállítani különböző onkogénekkal transzformált sejtek normális morfológiáját szövetnyezetben. Előadások hangzottak el a celluláris onkogének transzkripcióját gátló negatív szabályozó elemekről is. Ezek olyan DNS szakaszok, amelyek megakadályozzák a szomszédságukban (cisz) elhelyezkedő onkogének átírását, ha a géntől 5' irányban meghatározott pozíciót foglalnak el (mint pl. a c-mos gén működését szabályozó UMS - upstream mouse sequence), vagy pozíziójuktól és orientációjuktól független módon, mint az egér c-myc génjét reguláló „dehancer” szekvencia. Beszámoltak egy új típusú szabályozási mechanizmusról is, amely mindkét DNS szál egyidejű átírásán alapszik adott kromatin-régióban.

MINÁROVITS JÁNOS



GROWTH FACTORS, RECEPTORS AND ONCOGENS

A szimpozion nyolc meghívott előadója közül 3 amerikai, 1-1 svéd, holland, japán, nyugatnémet és magyar volt. A tanácskozás fő célja az volt, hogy átfogó képet nyújtson a növekedési faktorokkal összefüggő, az elmúlt években felgyorsult kutatásokról. Kiemelten foglalkozott a szimpozion a növekedési faktorok és az onkogének közti mind izgalmasabbá váló kapcsolatok kérdéseivel. A szimpozion címében szereplő receptor csak arra utal, hogy a növekedési faktoroknak ma még kevésbé felderített hatásmechanizmusával összefüggő sejtfelszíni kötődés problémája is napirendre került.

A nagy érdeklődés egyértelműen a témakör időszerűségét igazolta. (A mintegy 200 férőhelyes előadótermet csaknem teljesen betöltötte a hallgatóság. CURRAN (USA), YAMAMOTO (Japán) és BOLDHUIS (Hollandia) előadásai az onkogének és a sejtnövekedést szabályozó különböző molekulák közti kapcsolatok feltárásával foglalkoztak. KELLERMAYER a sejtnövekedés aktiválása és az intranukleáris fehérje-felhalmozás összefüggésére mutatott rá, felvetvén a növekedési faktorok közvetlen szerepét a sejtmagba irányuló fehérje-transzport indukálásában. MARKS nagy érdeklődéssel fogadott előadása az epidermisből izolált sejtnövekedést gátló faktorról szólt.

KELLERMAYER MIKLÓS



DNA REPLICATION AND REPAIR

A vizsgaidőszak újabban már augusztus közepén megkezdődik a Semmelweis Orvostudományi Egyetemen. Ezért napon-

ta csak néhány órát tudtunk az onkológus kongresszus idején tudományos éhségünk csillapítására fordítani. A biokémiai szekciók előadásainak kis töredékét tudtam csak meghallgatni, azonban így is az volt az érzésem, hogy biokémikusok vagy immunológusok között vagyok, ami számomra a kongresszus nagyon jó szakmai színvonalát jelentette. A kerekasztal megbeszélésen HANAWALT, P.C. (Stanford Univ.) előadását tartottam a legérdekesebbnek. Meghatározott génekben folyó DNS repair mérésére módszert dolgoztak ki. Ennek segítségével arra a következtetésre jutottak, hogy a génekárosodás javítása elsősorban nem a károsodás jellegétől függ, hanem a gén funkcionális állapotától. A DNS repair 4-5-ször nagyobb a kifejeződésre kerülő génekben, mint az inaktív génekben.

A B és T limfociták normál differenciálódási folyamatairól kaptunk nagyon világos és jó összefoglalást a "B-14: lymphoid tumors as models for studies of lymphocyte development" című kerekasztal-megbeszélésen. WEIGERT, M. (USA) ellenanyag diverzitás genetikai szabályozásáról tartott előadást. Azt hangsúlyozta, hogy az immunglobulin gének mozaikszerű összerakása a differenciálódás alatt nem biztosít olyan nagyszámú Ig molekula-variánst, mint ami a valóságban létezik. Tehát a szomatikus hipermutációnak a szerepe ma nagyobb hangsúlyt kap, mint bármikor. ALT, T.W. (USA) azt mutatta ki, hogy bizonyos onkogén csoportoknak (pl. a myc család) a normális B limfocita differenciálódásban is lehet szerepe, kifejeződésre kerülnek a pre-B limfocitákban.

STAUB MÁRIA



ROLE OF PROSTAGLANDINS IN CANCER

A kongresszusnak több szekciója foglalkozott a prosztanoidok szerepével a tumorsejt-növekedésben, az áttétképződésben, és a tumor-gazdasejt kölcsönhatásban. A BENNETT (UK) összefüggést mutatott ki műtétilag eltávolított emlőtumor PG-szintézise és a betegek 3 éves túlélése között. A PG-szintézis gátlásával állatkísérletekben fokozni tudta citotoxikus szerek hatékonyságát. K.V. HONN (USA) tumorsejtmembránból detergenssel kioldott olyan fehérje izolálásáról számolt be, amely vérlemezke-aggregációt és és véralvadást egyaránt kiváltott, az utóbbit a VII faktor hiányában is, Emberi vastagbél- és petefészek-rákszövetből katepszin-B -hez hasonló cisztein-proteinázt izolált, amely mint laminin-bontó enzim ugyancsak szerepet játszik a metasztázis-képzésben. HONN hipotézisét nem erősítette meg M. DONATI (Milano), aki egér fibroszarkoma esetében 90 %-os TXA₂ -szintézisgátlás mellett sem észlelte a primer tumor növekedésének és az áttétképződésnek a csökkenését. A hazai vizsgálatok a PGF₂alfa sejtproliferációt fokozó, a PGD₂, PGI₂ és a 7-oxo-PGI₂ növekedést gátló hatását igazolták különböző egértumorokon (JENEY és mtsai). P 388 egér limfoma áttétképzése jelentősen visszaszorítható volt PGI₂-vel; a gátló hatást fokozta, ha a tumorsejteket átoltás előtt melegítették (42 C fok), vagy utóbb röntgennel besugarazták (HOLLAND és mtsai). Tripszinnel kezelt sejtek elvesztik PGI₂-érzékenységüket; ez specifikus receptorok szerepét valószínűsíti. W.R. HANSON (USA) PG-k sugárvédő hatását mutatta ki - egér vékonybélhám és csontvelő sejteken. Ennek megfelelően a PG-szintézist gátló szerek sugárérzékenyítő hatású-

aknak bizonyultak. - H.E.CLAESSON (Stockholm) a leukotriének hatását vizsgálta krónikus mieloid leukémiában szenvedő betegek csontvelő sejtjeire in vitro. Megállapította, hogy fokozzák a granulocita - makrofág kolóniák képződését.

HOLLAND JÓZSEF



BIOCHEMICAL PHENOTYPES OF ANIMAL AND HUMAN TUMORS

Az előadások tematikáját a sokrétűség jellemezte. A daganatok biokémiai fenotípusát különböző biológiai objektumokon tanulmányozták. A vizsgált biokémiai parameter(ek) megváltozása - ribonucleotid-reduktáz (CORY, USA), amiláz, PSTI (Ogava, Japán), specifikus fehérjék megjelenése (SAKYAMA, Japán), izoenzimek (WEINHOUSE, USA) - jellemző volt a neopláziára. Megállapították azt is, hogy az anyagcsere szintetikus enzimei irányába való eltolódása a tumoros transzformáció általános jeleként értékelhető s ez független a daganat lokalizációjától és kiváltó ágens természetétől. Kitűnt, hogy a kísérletes tumorokra jellemző enzimatiszus eltérések az emberi primer tumorokra is érvényesek (TAKEDA, Japán, PRAJDA, Magyarország). G.WEBER professzor (USA) - Biochemical basis of cancer chemotherapy címmel tartott plenáris előadást. A nevéhez fűződő molekuláris korreláció elmélet alapján rámutatott arra, hogy a ráksejt anyagcserejének megváltozott biokémiai parameterei diagnosztikai értékük mellett célpontjai is lehetnek a rák-kemoterápiának.



PRAJDA NOÉMI

FEBS SUMMER SCHOOL on

BIOMEMBRANES AND MEMBRANE DISEASES

Kolozsvár, 1986 június 16-28.

Az utóbbi két évtizedben a membránbiológia egyre inkább a kutatások reflektorfényébe került. Érthető ez, hiszen az alapvető életfolyamatok membránokkal határolt terekben vagy éppen membránokhoz kötötten játszódnak le. A membránok kóros változásai bizonyos betegségek kiváltó okai lehetnek, míg más esetekben maga a betegség károsíthatja a genetikusan normális membránstruktúrát és/vagy funkciót - további tüneteket idézve elő.

A 180 résztvevőt számláló nyári iskola előadói közül csak néhányat említünk : A.KOTYK (Csehszlovákia), H.de GIER (Hollandia), D. DEAMER (USA), H.PASSOV (NSZK), S.SVETINA (Jugoszlávia), J.WRIGGLSWORTH (Anglia), J.TAGER (Hollandia), L.PACKER (USA), G.BENGA és VINCZE János (Románia). - Az elhangzott előadások a membránkutatásban használt biofizikai és biokémiai módszerek széles skálájával foglalkoztak. Kiemelték, hogy a biofizikai módszerek nagy előnye: velük az összetevők tulajdonságait a membrán eredeti, „összeszerelt” állapotában vizsgálhatjuk. A fázisátmenetek, a fehérjék denaturációjának vizsgálatára a röntgendiffrakciót, a cirkuláris dikroizmust, a molekuláris mozgások tanulmányozására az infravörös- és a Raman-spektroszkópiát, valamint a fluorescens módszereket használhatjuk. Az elektron-spin-rezonancia-spektroszkópia és az NMR-spektroszkópia ugyancsak számos új eredményt hozott. E módszerek alkalmazásának előfeltétele a megfelelő matematikai modell.

Az előadások és a viták részletesen foglalkoztak az újabb biokémiai technikákkal is. Az alap kutatások és az alkalmazás közötti szoros összefüggéseket jól tükrözte ez a nyári iskola.

VINCZE JÁNOS

1986: Year of Peace



Over 400 representatives of 115 International non-governmental organizations and 71 national organizations from 36 countries attended "Together for Peace", a Conference held in Geneva from 20 to 24 January 1986 to mark the International Year of Peace. Topics discussed at the Conference, held under the auspices of the Board of the Conference of Non-Governmental Organizations in Consultative Status with the Economic and Social Council of the United Nations, included questions of disarmament, development, social progress, justice, human rights, satisfaction of basic human needs, and preparation of societies for life in peace. At the end of the Conference, the following appeal was adopted by acclamation.

We appeal to all people of the world to join in a common pursuit of peace.

With just a decade and a half for this century to come to a close, we are convinced of the duty and obligation of all people to make concerted efforts to usher in a world of peace as the new century opens. We are convinced that it can be done, that the present dangerous trends in world affairs can be stopped and reversed. We see signs of hope in the new spirit of dialogue and openness among leaders of nations and in the determination of the people to attain peace.

We do not have to recount the threats to peace. The race towards nuclear catastrophe is keeping up its momentum. As if the earth and the oceans can no longer bear the weight of weapons outer space is explored for stationing of arms. Hundreds are killed every day by non-nuclear weapons. Hunger takes its daily toll of thousands. Millions are deprived of basic human needs and fundamental human rights. Millions still groan under domination and exploitation. Apartheid continues, denying justice, destroying people and destabilizing nations.

Among the events marking the International Year of Peace, a Congress of Intellectuals for the Peaceful Future of the World was held in Warsaw (Poland) in January 1986. The 250 participants included scientists, writers and artists from 54 countries representing all the world regions. The discussions, devoted to the main dangers threatening international peace and security, ended with the proclamation of a Message, salient passages of which are published below.

WE, intellectuals, have assembled in the heroic city of Warsaw, city of peace, to defend the peaceful future of the world. Anxiety about the destiny of the world has brought us here. Anxiety about our homes and cities, anxiety about our science and culture. The threat of total annihilation hangs over us. Differences of outlook notwithstanding, we express in our diverse languages our common conviction: that our prime task is to defend the universal values of culture. At this decisive moment in history we declare ourselves in favour of life. We declare ourselves in favour of peace and co-operation, against war and the arms race which leads to war.

Weapons will not preserve our future. We are convinced that the production and accumulation of weapons of mass extermination cannot be justified by the needs of national or international security. Weapons are an unmitigable waste of the world's material and

We appeal therefore to work together for a world of peace, not where war is merely absent, not where human survival is just possible, but where justice prevails and human dignity is upheld.

We reiterate that the nuclear arms race constitutes the greatest threat to peace and survival. Our appeal therefore assumes a special urgency in this regard. ...

As we pledge to work together for disarmament we appeal to all to join in and support efforts for an immediate end to all nuclear weapon tests, a comprehensive test ban treaty, the prevention of an arms race in outer space, elimination of chemical weapons and all other weapons of mass destruction, and substantial reduction in conventional weaponry. We believe that it is possible to implement a systematic and credible programme for the elimination of nuclear weapons by the end of the century.

We believe that peace is inextricably interlinked with development and social progress and that its foundation is justice. Deprivation and disparity are threats to peace. We therefore call for a strategic development initiative for a new international economic order that ensures just economic relations between and within nations. We further appeal for genuine respect of the rights of people to decide their own destiny, their rights to self-determination and interdependent development, non-interference in their internal affairs, in conditions of security and social progress.

We emphasize that the exercise of human rights and freedoms is an essential element of

intellectual resources. They lead to greater inequalities in the level and quality of life. We declare our support for disarmament in all its aspects. The threat of the extension of weapons into space fills us with anxiety and terror.

A durable peace depends on the renunciation of force in international relations and on the peaceful settlement of all conflicts, the establishment of confidence and détente, and disarmament. With this in view we must stop the race leading to the destruction of our civilization, to the annihilation of the spiritual and material heritage of humanity.

In the nuclear era, an armed conflict would solve no problem. There would be neither victors nor vanquished. Peace is our fundamental common value. The right to life, to live in peace, is the right which underlies all human rights, the first condition for the realization of political, social, economic and cultural rights.

Peace is also threatened by the aggravation of injustices in economic relationships. In spite of enormous advances made within our civilization, the numbers of the hungry, the homeless, the unemployed, and the sick are growing.

The survival of humanity thus depends on finding urgent solutions to crises with worldwide ramifications: the food and energy crises, crises of ecology and massive debt. Common global problems will only be solved through global co-operation.

Wars are born in the hearts and minds of men. The construction of peace begins with

peace. Violations of them are a major cause of armed conflicts. The fuller the rights that every person enjoys in society, the more stable that society will be; the fuller the implementation of human rights globally, the more stable international relations will be. ...

We recognize that peace is an essential requirement for the satisfaction of basic human needs such as food, shelter, health, education, labour and environment. As we commend recent co-operative actions across continents to meet emergency needs for food, we appeal for more systematic and concerted attempts to prevent death by starvation and for the adoption of long-term policies nationally and internationally to ensure food for all.

We call for joint actions to promote substantial reduction of military expenditures with a view to rectifying the current distortion in the use of resources. We agree that every gun that is made, every warship launched, every rocket fired, signifies in the final sense a theft from those who hunger and are not fed, those who are cold and are not clothed.

Recognizing the importance of preparation of societies for life in peace we call for a new orientation in education, science, culture, religion and mass media towards peace-making.

The resources available in these areas can be more constructively utilized for peace. ...

Nations must seek peace together. We can only create a common future if we can cope with the common crisis we face and build peace on the basis of the concept of common security. We appeal for a greater commitment to international co-operation for which the universal instrument is the United Nations. We pledge our continued support to the United Nations and its agencies. ...

We realize that the odds are tremendous. But we are confident that the determination of the people to achieve peace will prevail. We have optimism and hope because we are together for peace. It is in that spirit that we renew our commitment to peace and invite you all, all peoples of the world, to join in the challenging tasks ahead. ■

education in the spirit of peace, with the preparation of peoples to live in peace.

Science and technology create a better world as long as they contribute to the creative development of man and not to his destruction. We declare ourselves in favour of freedom of scientific research and of the general availability of the achievements of world science.

We express the hope that literature, the arts and education will play a greater role in the formation of human attitudes.

We consider that nothing divides us in our aspiration to provide present and future generations with the opportunity to live in peaceful conditions, to live a life worthy of man.

We hope that the International Year of Peace will bring, in conformity with the spirit of Geneva, a decisive improvement in the relations between East and West and an end to wars on all the continents.

We support the efforts of the United Nations in favour of international security and peaceful co-operation between States. These efforts spring from the ideals of the Charter of the United Nations and conform to the expectations of peoples.

Gathered at the Congress of Intellectuals in Warsaw, we appeal:

- for renunciation of force in international relations, for an end to the arms race, for renunciation of space weapons programmes, for the liquidation of atomic weapons during this century;

- for the International Year of Peace to mark the start of an era of Peace on our Earth. ■