

BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület
tájékoztatója

Quarterly Review of the
Hungarian Biochemical Society

Szerkesztő bizottság : Alkonyi István, Antoni Ferenc, Bagdy Dániel
Elődi Pál, Falus András, Fésüs László, Ger-
gely Pál, Huszti Zsuzsa, Nyeste László, Sar-
kadi Balázs, Szász Ilma

Felelős szerkesztő : Bagdy Dániel
Technikai szerkesztő : Bölöni Erzsébet

A tartalomból :

Beszámoló a '3rd International Conference on Biochemical Separations'
(Sopron) rendezvényről

- Applicability of Planar Chromatography in the Analysis and Isolation of Plant Substances
- Affinity-Amplified Immunoassay for the Detection of Insect Juvenile Hormone Esterase
- Application of Off-Line and On-Line OPLC in Biochemistry
- Elektroferogramok analízise néhány MEV energiájú ionnyalábokkal

Structural Determinants of the Binding of Gliadin Fragments to Human Peripheral Blood Lymphocytes

Biokonjugátumok a tumordiagnosztikában és terápiában

In memoriam Antoni Ferenc (1928-1991)

Egyesületi - szakosztályi élet

Hírek és események

Contents

Reports on the 3rd International Conference on Biochemical Separations. Sopron, Hungary, 30 September - 4 October

Structural Determinants of the Binding of Gliadin Fragments to Human Peripheral Blood Lymphocytes

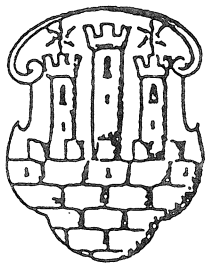
Bioconjugates in the Diagnostics and Therapy of Tumours

Obituary - Prof. Ferenc Antoni (1928-1991)

News and events

E számunk szerzői :

Hajós Gyöngyi, KÉKI, Budapest. Nviredi, Szabolcs Res. Inst for Med. Plants, Budakalász. Székács, András Dept. Biotech., Org. Chem. of Plant Protection Inst. Budapest. Hammock, D. Bruce Dept. of Entomology and Environmental Toxicology, Univ. of California, USA. Tyihák Ernő Plant Protection Inst., Hung. Acad. Sci. Bp., Hungarian Biochemical Society. Mincsovcics, E. and Garami, M. LABERTÉ Factory of Laboratory Instruments, Co. Ltd. Budapest. Lelik, L. Univ. of Horticulture and Food Chemistry, Budapest. Szőkefalvi-Nagy, Zoltán MTA KFKI Részecske és Magfizikai Kut. Int. Sevelle Béla BME Mezőgazdasági Kémiai technológiai Tanszék. Hollósi, M., Süli-Vargha, H., Medzihradsky, H. Inst. Org. Chem. and Peptide Res. Group, Hung. Acad. Sci. Budapest. Fasman, G. D. Graduate Dept. of Biochem., Brandeis Univ., Waltham, Massachusetts, USA. Kunos, G. Lab. Physiol. and Pharm. Studies NIAAA, Rockville, MD. Gráf, L. Biochem. Dept. L. Eötvös Univ. Budapest. Hudecz F. Eötvös L. Tudományegyetem, Peptidkémiai Kut. csop. Tóth M. és Bánfalvi G. Semmelweis OTE. I. Kémiai-Biokémiai Int. Nemcsók, J. JATE Biokémiai Int. Szeged.



3rd INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIOCHEMICAL SEPARATIONS

organised by
The Hungarian Biochemical Society
and
The Hungarian Chemical Society

30 September - 4 October, 1991
SOPRON, HUNGARY

többségének kimondott vagy leírt véleménye ez. Jól sikerült annak el-
lenére, hogy a helyszín egy magyar kisváros volt a tengernyi nemzet-
közi konferencia vonzó ajánlatai között...

A konferencia túlnőtte a Sopron Szálló kereteit. 100-120 résztve-
vőre számítottunk és mintegy 150-en regisztráltak. A jelenlévők 11 or-
szágból érkeztek és a szóbeli előadások szerzőinek csaknem fele kül-
földi volt. A tudományos program a javasolt tématerületeknek szinte az
egészét felölelte :

- High performance GC and GC-MS
- Liquid phase separation methods :
- HPLC, HPLC-MS, FPLC, SFC
- Modern layer liquid chromatographic techniques : HPTLC, OPLC, RPC
- Chiral separation in biochemical analysis
- Automation and validation of bio-chemical analysis
- Ion chromatography
- Affinity chromatography
- Capillary electrophoresis
- Isoelectric focusing
- Immuno-electrophoretic techniques
- Preparative electrophoretic techniques
- New techniques for sample preparation in biochemical analysis
- Pre- and post-column reactions

HUBER professzor nyitó előadásában elemezte a HPLC lehetőségeit a bio-
lógiai anyagok szeparálásában. A HPLC elvi és gyakorlati távlatait és
hatásait összegező előadása tartalmában és előadásmódjában egyaránt
meghatározó volt a tudományos program folytatására is. Számos értékes
és kiváló előadást hallhattunk mind külföldi, mind magyar előadóktól.
Közülük néhányat - rövid közlemény formájában - a következő oldalakon
olvashatnak.

A tudományos programon túl: a konferencia első estéjén szervezett
parti az ismerkedési és gasztronómiai élményeknek egyaránt kedvezett
és e harmóniát a "Hét Borbírák" által ajánlott kitűnő magyar borok még
elmélyítették. A Szent Mihály templomban tartott orgonahangverseny, a Fertő tó
s a szelid, lankás környező táj látványa, Nagycenken a Széchenyi múzeum
különleges atmoszférája - felejthetetlen emlékek.

Néhány gondolat a konferenciáról

A konferenciák sikerét,
értékét, előnyeit vagy problé-
máit számtalan szempontból
lehet megítélni; az össz-
hatást sokrétű értelmi, ér-
zelmi és környezeti ténye-
zők bonyolult összefonódá-
sa határozza meg.

z a konferencia - jól
sikerült. Az előadók, a
résztvevők és a kiállítók

Applicability of Planar Chromatography in the Analysis and Isolation of Plant Substances

Szabolcs Nyiredy

Research Institute for Medicinal Plants,
H-2011 Budakalász, P. O. Box 11, Hungary

Introduction

In planar chromatography besides the paper chromatography and TLC with the introduction of fine particle size HPTLC plates into the planar chromatography, higher resolution could be achieved, which encouraged the development of the various forced-flow planar chromatographic (FFPC) techniques. At that time the users of paper chromatography became acquainted with TLC, later with HPTLC, and now the TLC/HPTLC practitioners are the potential FFPC and multi-layer FFPC users. Such is the logic of methodological development.

The category of FFPC includes all methods, where the mobile phase migrates not only with the capillary action, but also with forced-flow. Three basic FFPC methods exist until now. The forced-flow is achieved either by pressure, by applying an electric field or by centrifugal force [1]. In recent years the application of external pressure for overpressured layer chromatography (OPLC) and centrifugal force for the different types of rotation planar chromatography (RPC) was strongly developed.

In FFPC the separation may be started with a dry layer, as in classical TLC, but the closed system also permits to carry out fully on-line separation, where the separation can be started with the mobile-phase equilibrated stationary-phase system, as in high-performance liquid chromatography (HPLC). Therefore the fully on-line FFPC is a planar variation of HPLC.

Application of FFPC in the analysis and isolation of plant substances

In the last years many papers reported about the applicability of the analysis and isolation of medicinal plants using OPLC and/or RPC [e.g., 1,2]. In the following some examples are given to demonstrate the possibility of these techniques.

A rapid fully on-line linear OPLC analysis of flavonoid glycosides from *Betulae folium* was reported by Dallenbach et al. [3]. A comparative study using fully off-line

OPLC and HPLC for the analysis of these compounds from *Betulae pubescens* and *B. pendula* was also published [4]. The micropreparative U-RPC separation of 12 mg prepurified extract from leaves of *Betulae* species using a fine particle size chromatoplate was also reported [5].

For the successful M-RPC separation of the poppy alkaloids [6], the stationary phase has to be preconditioned with the mobile phase, which contained diethylamine as modifier. After the mobile phase had migrated 6.5 cm, a step gradient was used with the second solvent delivery system, because otherwise narceine would remain at the start. A base-line separation of the six alkaloids could be achieved as, as it was demonstrated with the densitogram.

Normal phase chromatographic plates were used for the analytical U-RPC separation of iridoid glycosides from *Veronica officinalis* [7]. For the separation of these highly polar compounds the rotation speed had to be rather low and so the separation was finished in 50 min.

The analytical U-RPC separation of the apolar furocoumarin isomers from a *Heracleum sphondylium* extract is an example for a rapid separation, where 30 samples could be separated on a single plate within 28 min. This analytical separation was also used for the up-scaling to preparative U-RPC [8]. For these experiments, the samples were applied with a syringe on the rotating plate, similar to the preparative separation. The calculation was the maximum sample load on an analytical plate with satisfactory resolution (8 mg) times 20, which is the difference between the layer thickness of the analytical and preparative sorbent. Therefore 160 mg extract was applied for the preparative separation because the difference in particle size and the separation distance of analytical and preparative plates may be neglected. The on-line separation on the right was finished within 3 hours.

The efficiency of a step gradient for the preparative OPLC separation of secoiridoid glycosides from an extract of *Gentiana purpurea* using a 20 x 40 cm chromatoplate was also demonstrated [9]. The separation was carried out as a combination of off-line and on-line steps, the sample was applied off-line, the separation and detection was on-line.

Parallel connected multi-layer FFPC

Mincsovcics et al. [10] found that OPLC is suitable for the development of several chromatoplates simultaneously if the plates are specially prepared. With this multi-layer technique (see Figure 1) a great number of samples can be separated during a single chromatographic run. In this version of OPLC the same or different types of stationary phases can be used for the simultaneous development of several chromatoplates. This version is not only excellent for rapid off-line analytical OPLC, but also suitable for RPC

separations. The efficiency of the method allows to develop many special prepared HPTLC plates simultaneously for the separation of more hundred samples during a single chromatographic run.

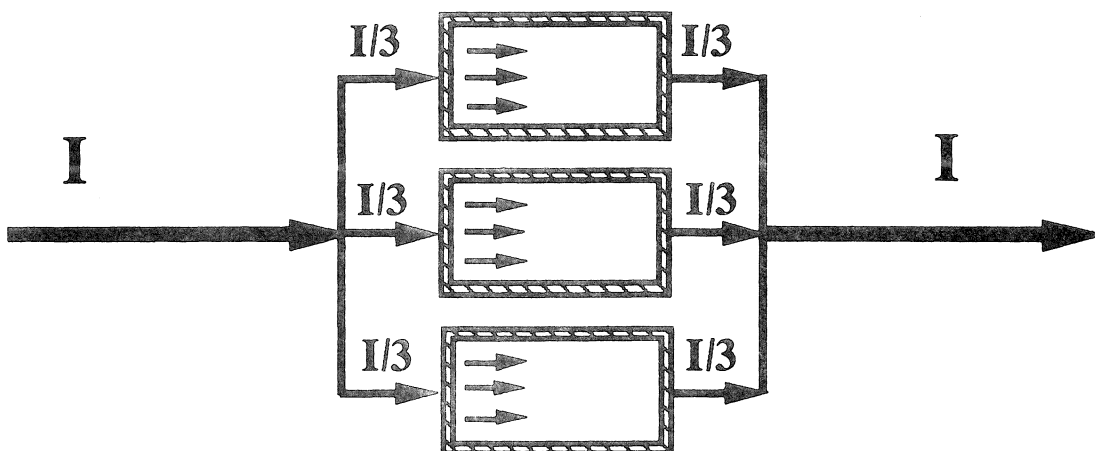


Figure 1 Schematic drawing of parallel connected multilayer FFPC in linear development mode.

The parallel connected multilayer FFPC can be carried out for linear and circular OPLC as well as for circular RPC for analytical and micropreparative purposes.

Serial connected multilayer FFPC

Inspired by the possibilities of multi-layer OPLC, as well as the different column switching methods of HPLC [11], recently Botz et al. [12, 13] proposed a novel OPLC development technique where the separation distance can be freely increased due to the special arrangement of the chromatoplates. When applying this technique it is also possible to realize the use of different stationary phases in planar chromatography during a single development.

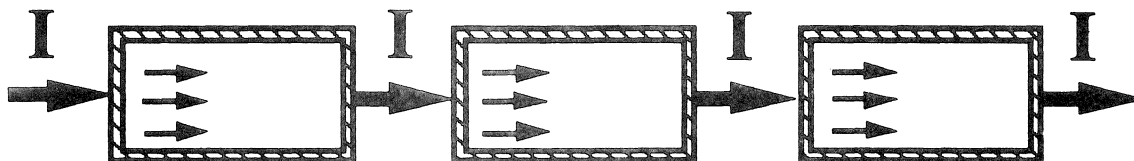


Figure 2 Schematic drawing of serial connected multilayer FFPC in linear development mode.

This category of multilayer FFPC is the serial connection of chromatoplates, the long-distance OPLC, where the efficiency of the separation is increased significantly.

For long-distance (serial connected) OPLC in linear development mode specially prepared plates are necessary. Similar to the preparation of layers for linear OPLC development, all four edges of the chromatoplates must be impregnated with a special polymer suspension. The movement of the eluent with a linear solvent front can be ensured by placing a narrow plastic sheet on the layer or scraping a narrow channel in the sorbent for the solvent inlet. Several plates are placed on top of each other to ensure the long run distance. The end of the first top chromatoplate has a slit-like perforation to permit the mobile phase to travel to a second layer where the migration continues until the opposite end of the second layer where the travelling can be continued to the next chromatoplate or the eluent is led away. Also even it is possible that migration is finished. Clearly, on this basis a very long separation distance can be achieved by adding one plate to another. In consequence of the layer preparation, glass bearing plates can only be used in the most bottom position.

At this technique the upper plate has an eluent inlet channel on one-side and a slit on the other-side for travelling the mobile phase to the next plate. The slit (width about 0.1 mm) can be located on the layers using sharp-cutting, permitting a good passage of the mobile phase and individual samples without any mixing. The cushion of the OPLC instrument is applied to the uppermost layer only, and each plate presses the sorbent layer below.

The fully off-line separation is finished when the α -front of the mobile phase reaches the end of the lower plate. In Figure 2 the fully on-line operating mode is illustrated, where all compounds to be separated have to be moved on at the same separation distance.

The potential of the serial connection of layers can be increased using different (hetero) stationary phases during one development. Furthermore, the eluate can be led out from the lower plate, similarly to the way in which it is led in. This gives the possibility of on-line detection. For this fully on-line operating mode all layers placed between the most upper and lower plates have to be cut off 1 cm from the length of the plate, to ensure the mobile phase outlet.

From the various hybridized possibilities of the multi-layer FFPC techniques in Figure 3 a combination of the parallel and serial connected chromatoplates is shown, this variation is especially suitable for preparative separations using HPTLC plates. At this arrangement of the plates the top 3 plates are connected parallel, the 2 bottom linear to each other. In Figure 3 also the type of sorbent materials are varied, the different stationary phases are marked with various shades of grey.

Note that at these connections the local mobile phase velocity is different between the parallel and the serial connected chromatoplates.

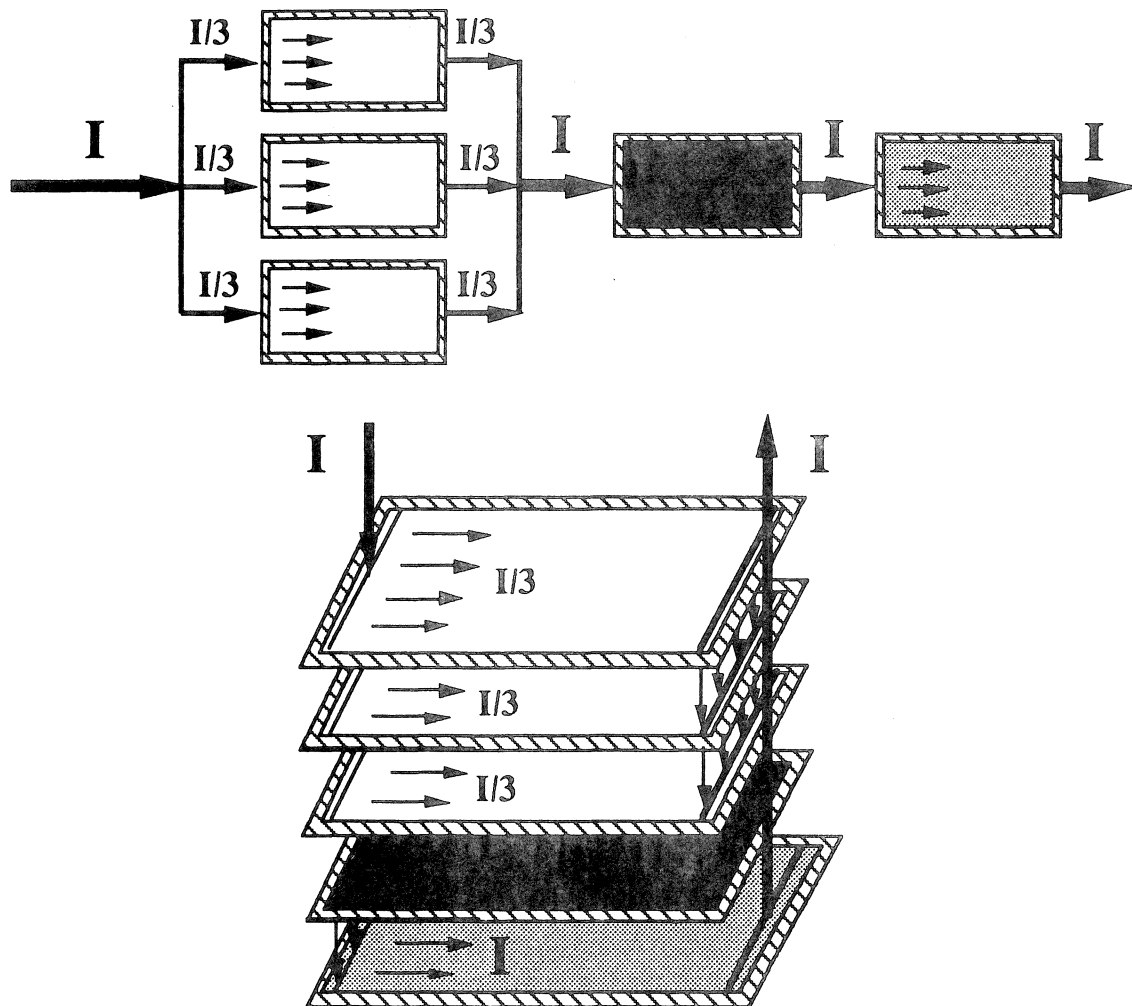


Figure 3 Schematic drawing of combination of parallel and serial connected multi-layer FFPC in linear, fully on-line operating mode.

Application of multi-layer FFPC in the analysis and isolation of plant substances

The multi-layer OPLC separation of 360 samples of plant extracts containing ergot alkaloids within 2.5 minutes using 5 chromatoplates, and the successful separation of 288 prepurified extracts from *Papaver somniferum* applying 4 chromatoplates in the parallel connected operating mode was also reported [14].

The applicability of the parallel connected multi-layer technique for the micropreparative separation using 2 HPTLC plates with U-RPC methods was demonstrated of a raw extract from 1000 mg *Malva silvestris* leaves [14].

Botz et al. [13] demonstrated the efficiency of the long distance OPLC for the separations of eight furocoumarin isomers (isobergaptin, angelicin, psoralen,

bergapten, pimpinellin, sphondin, xanthotoxin and isopimpinellin) as well as the analytical separation of coumarins from *Peucedanum palustre*.

Conclusion

Using the parallel connected multi-layer FFPC more hundred samples can separate generally in a few minutes. This methods is an excellent screening method e.g., for the quick testing in plant breeding, or after scanning with a densitometer for quantitative determination of the desired compounds.

The other version of multi-layer FFPC, the long-distance OPLC enables easily to increase the development distance of chromatoplates to the desired distance at the optimum mobile phase velocity. Another advantage of the method is that also different sorbents can be used so that each part of a complex mixture can be separated on a suitable stationary phase. This method is applicable for off-line separation of many samples and on-line determination of a single sample, as well as for the isolation of compounds from a biological matrix using fine particle size analytical plates.

References

- [1] E. Tyihák and E. Mincsovcics, J. Planar Chromatogr. 1 (1988) 6.
- [2] Sz. Nyiredy, L. Botz and O. Sticher, J. Planar Chromatogr. 2 (1989) 53.
- [3] K. Dallenbach-Tölke, Sz. Nyiredy, B. Meier and O. Sicher, J. Chromatogr. 365 (1986) 63.
- [4] K. Dallenbach-Tölke, Sz. Nyiredy and O. Sticher, Dtsch. Apoth. Ztg., 127 (1987) 1167.
- [5] Sz. Nyiredy, L. Botz and O. Sticher, Am. Biotechnol. Lab., 8 (1990) 9.
- [6] Sz. Nyiredy, K. Dallenbach-Tölke and O. Sticher, in: Recent advances in Thin-Layer Chromatography (Eds. F.A.A. Dallas, H. Read, R.J. Ruane and I.H. Wilson), Plenum, London 1988, pp. 24-54.
- [7] K. Dallenbach-Tölke, Sz. Nyiredy and O. Sticher, J. Chromatogr. 404 (1987) 365.
- [8] Sz. Nyiredy, S.Y. Mészáros, K. Dallenbach-Tölke, K. Nyiredy-Mikita and O. Sticher, J. Planar Chromatogr. 1 (1988) 54.
- [9] Sz. Nyiredy, C.A.J. Erdelmeier, K. Dallenbach-Tölke, K. Nyiredy-Mikita and O. Sticher, J. Nat. Prod., 49 (1986) 885.
- [10] E. Mincsovcics, E. Tyihák and T.J. Székely, J. Chromatogr. 471 (1989) 375.
- [11] R.E. Majors, J. Chromatogr. Sci. 18 (1980) 571.
- [12] L. Botz, Sz. Nyiredy and O. Sticher, J. Planar Chromatogr. 3 (1990) 352.
- [13] L. Botz, Sz. Nyiredy and O. Sticher, J. Planar Chromatogr. 4 (1991) 115.
- [14] Sz. Nyiredy, Zs. Fatér, L. Botz and O. Sticher, J. Planar Chromatogr., in press.

AFFINITY-AMPLIFIED IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF INSECT JUVENILE HORMONE ESTERASE

András Székács^{x+} and Bruce D. Hammock⁺

^xDepartments of Biotechnology and Organic Chemistry, Plant Protection Institute of the Hungarian Academy of Sciences, 1525 Budapest, P.O.Box 102, Hungary.

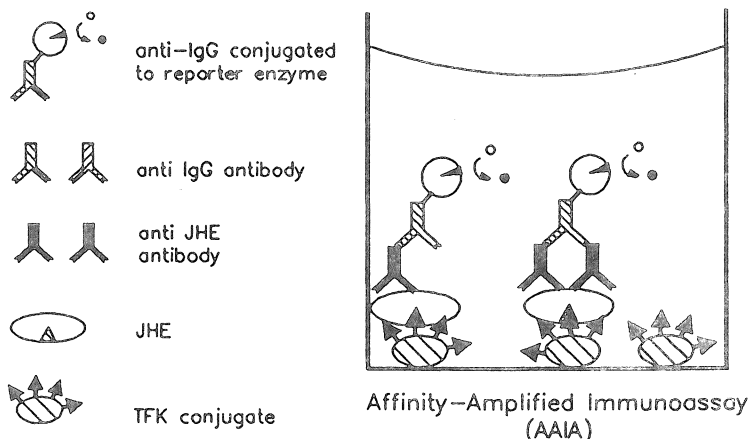
⁺Departments of Entomology and Environmental Toxicology, University of California, Davis CA 95616, USA

Insect juvenile hormone esterase (JHE) is believed to function as a key element in the metabolism of juvenile hormones (JHs) in several insect species, therefore playing an important role in the regulation of insect metamorphosis [1]. Monitoring its catalytic activity in various tissues of the insect body is equally important for better following the developmental stage of a given insect and for characterizing the enzymatic behavior and possible inhibition. The presently used radiometric partition method [2] to measure JHE activity, based on the hydrolysis of ³H-labeled substrates, is well established and provides reliable information, however, it has several drawbacks for at least two reasons. One, applying radioisotopes, it is relatively expensive and requires caution. Two, it can be used only with tissues containing no other esterases that can cleave the substrate, JH.

Another way to selectively detect JHE is with the use of antibodies. In a collaboration between our laboratories, we targeted to design an immunodetection system specific for JHE. In the Davis laboratory, rabbit antibodies have been raised against JHE from several insect species, i.e. *Trichoplusia ni* (cabbage looper), *Manduca sexta* (tobacco hornworm), *Heliothis virescens* (tobacco budworm), *Helicoverpa zea* (corn earworm) and *Bombyx mori* (silkworm) in order to assist the purification and characterization of this enzyme. These antibodies, in enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) or Western blot formats, generally offer selective recognition at peak levels in insect hemolymph, but are not adequate to monitor physiologically interesting low levels of the enzyme present in hemolymph at other developmental stages or in other tissues. In addition, the antibody response does not necessarily measure the enzyme protein in its catalytically active form.

To ensure the selective binding of only the catalytically active form of the enzyme

protein to the solid surface, we decided to develop a new format for ELISA with the use of affinity ligands. Immobilized tight binding inhibitors, i.e. trifluoromethyl ketone sulfides (TFKs), putative transition state mimic inhibitors of JHE [3-8], offer a way to specifically amplify the sensitivity of the antibody



recognition towards the catalytically active enzyme. The assay format, we named **Affinity-Amplified Indirect Immunoassay (AAIA)**, is similar in principle to affinity-separation.

For the assay, TFK haptens, *in vitro* inhibitors of JHE, have been bound to various proteins. To synthesize the immobilized (peptide-conjugated) TFKs, four haptenic compounds with thiol and carboxyl functional groups were prepared. Conjugation has been carried out using heterobifunctional coupling reagents (spacers) or the mixed anhydride method. Three proteins, keyhole limpet hemocyanin (KLH) and chicken embryo conalbumin (CONA) were applied as carrier proteins, alkaline phosphatase (AP) and horseradish peroxidase (HRP) enzymes were used as reporter enzymes. The TFK-protein conjugates have been characterized as esterase inhibitors and have been applied in several formats of solid-phase ELISA using specific antibodies raised in rabbits against purified JHE.

The new format of the affinity-amplified immunoassay has been successfully applied to simultaneous separation and monitoring low levels of insect JHE in diluted hemolymph and egg homogenate from several insect species. The new immunoassay system - like an *in situ* affinity chromatography purification - not only increased assay sensitivity for the target esterase but detected it only in its catalytically active form. In the assay, the TFK conjugate forms a tight-bound complex with the enzyme, which is then recognized by the first antibody. A color signal is then created by a second antibody conjugated to an enzyme and its colorimetric substrate added in the last step.

Since the TFK conjugates in the AAIA format retained inhibitory activity towards JHE according to the radiopartition assay, two difficulties associated with using ELISA formats for the detection of JHE in hemolymph can be solved by the use of these conjugates. First, JHE levels in hemolymph are often so low that our current antibodies cannot detect it specifically from other hemolymph proteins present at far greater concentrations. Second, applied alone the JHE antibody may not specifically detect the catalytically active form of JHE. Using the TFK-protein conjugate as coating solves both these problems. Only active JHE binds to the TFK conjugate, other hemolymph components are washed from the plate. This then increases the signal/noise ratio enabling the antibody to specifically detect low levels of active JHE.

This work was supported by Grants ES02170-07, DCB-8518697 and 85-crcr-1-1715 from NIEHS, NSF and USDA, respectively.

References

- [1] B.D. Hammock *In: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, G.A. Kerkut and L. Gilbert, Eds., Pergamon Press, N.Y., pp. 431 (1985).
- [2] B.D. Hammock and R.M. Roe *In: Methods in Enzymology* 111, 487 (1985).
- [3] B.D. Hammock, Y.A.I. Abdel-Aal, C.A. Mullin, T.N. Hanzlik and R.M. Roe *Pestic. Biochem. Physiol.* 22, 209 (1984).
- [4] R.J. Linderman, J. Leazer, K. Venkatesh and R.M. Roe *Pestic. Biochem. Physiol.* 29, 266 (1987).
- [5] A. Székács, B.D. Hammock, Y.A.I. Abdel-Aal, P.P. Halarnkar, M.L. Philpott and Gy. Matolcsy *Pestic. Biochem. Physiol.* 33, 112 (1989).
- [6] A. Székács, B. Bordás, Gy. Matolcsy and B.D. Hammock *In: Probing Bioactive Mechanisms*, P. Magee, J. Block, and D. Henry, Eds., American Chemical Society Symp. Ser. 413, pp. 169 (1989).
- [7] A. Székács, P.P. Halarnkar, M.M. Olmstead, K.A. Prag and B.D. Hammock *Chem. Res. Tox.* 3, 325 (1990).
- [8] T.C. Thomas, A. Székács, S. Rojas, B.D. Hammock, B.W. Wilson and M.G. McNamee *Biochem. Pharm.* 40, 2587 (1990).

APPLICATIONS OF OFF-LINE AND ON-LINE OPLC IN BIOCHEMISTRY

E. Tyihák¹, E. Mincsovcics², M. Garami² and L. Lelik³

1

Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, Budapest

2

LABERTÉ Factory of Laboratory Instruments Co. Ltd., Budapest,

3

University of Horticulture and Food Chemistry, Central Laboratory, Budapest

The development of the pressurized ultramicro (UM) chamber using a pump system for admission of the eluent was the first successful step to a real planar layer version of HPLC. This chamber system is the basic instrument of overpressured layer chromatography (OPLC) (1-3). The principle of OPLC is simple and it has great potential for analytical and preparative separations of a wide variety of substance groups of biological origin.

The application of a high external pressure (e.g. 6.0 MPa) in OPLC also makes possible reaching an optimum linear eluent front velocity in the case of more viscous eluents (RP systems) or fine- and superfine-particle sorbent layers. A linear OPLC system equipped with an injector and a detector makes for high flexibility in its application and a possibility for on-line operating mode. From this fact it follows that linear OPLC is suitable for both on-line and off-line sample application, separation, detection and for combination of these. On-line OPLC which is a real layer chromatographic version of HPLC, is especially suitable for a direct coupling to other techniques. A direct connection system that requires no modifications to either OPLC instrument or the mass spectrometer is demonstrated for the coupling of on-line OPLC to a sophisticated mass spectrometer and a computer (OPLC-MS) (4). The combination or direct coupling of OPLC and HPLC separation as a new solution in OPLC provides attractive solutions to matrix interference problems that complicate otherwise straightforward OPLC separations (5).

A new version of OPLC using two, three or more chromatoplates during one separation was developed (6). This technique, called overpressured multi-layer chromatography (OPMLC) is very attractive because a large number of samples (50-100 or more) can be separated during one development. The development of OPMLC exploits unique possibilities of the layer liquid system which are absent from the column liquid systems.

Study of formaldehyde cycle by OPLC

According to recent investigations there is a formaldehyde (HCHO) cycle in biological systems, that is, the enzymic methylation reactions take place through the HCHO and at the same time all methyl groups are potential HCHO generators. There exists a number of quick HCHO pathways through the methylol groups of different binding force (7).

The level of HCHO in different tissues and biological fluids was determined by collecting HCHO molecules in the form of formaldemethone (a dimedone adduct of HCHO) or dinitrophenylhydrazone. The tissues were firstly freezed with liquid nitrogen, powdered and incubated with reagent solution. The reaction products were extracted with different solvents to OPLC separations.

For the measurement of HCHO generators and the N-, S- and O-methylated substances as components of HCHO cycle off-line and on-line OPLC methods were used - among others - in multi-layer system as well.

Study of the phases of stress syndrom

There is an intensive research for the isolation and identification of such endogenous molecules in biological systems which play a role in biotic and abiotic stress situations, in resistance potential and in biochemical immunization.

Natural resistance factors of different type can be studied by OPLC methods. OPLC-MS has been applied to the detection and structure investigation of N -methylated lysines, N^G-methylated arginines as cell proliferation influencing factors. A stress can sensitize plants to respond to further stresses. Induction of resistance ultimately depends on a resistance potential of plants, which is the most important means of disease control. OPMLC as a new version of OPLC is especially suitable for the attractive separation of resistance factors and antistressors.

References

- 1 E. Tyihák, E. Mincsovcics and H. Kalász, J. Chromatogr. 174, 75 (1979).
- 2 E. Mincsovcics, E. Tyihák and H. Kalász, J. Chromatogr. 191, 293 (1980).
- 3 H. Kalász, J. Nagy, E. Tyihák and E. Mincsovcics, J. Liquid Chromatogr. 3, 845 (1980).
- 4 E. Tyihák, L. Lelik, E. Mincsovcics and M. Garañi, 18th Intern. Symp. on Chromatography, 23-28 September, 1990, Amsterdam, Abstract Book Th-P-007.
- 5 E. Mincsovcics, E. Tyihák, P. Baranyi and B. Tapa, Patent pending (1990).
- 6 E. Tyihák, E. Mincsovcics and T.J. Székely, J. Chromatogr. 471, 375 (1989).
- 7 E. Tyihák, Proc. of 2nd Intern. Conf. on The role of formaldehyde in biological systems, Sept. 8-12, 1987, Keszthely, Hungary, SOTE Press, pp. 137-144, Budapest, 1987.

ELEKTROFORETOGRAMMOK ANALIZISE NÉHÁNY MEV ENERGIÁJÚ
IONNYALÁBOKKAL

Szőkefalvi-Nagy Zoltán

MTA KFKI Részecske- és Magfizikai Kutató Intézet, Biofizikai
Csoport, 1121 Budapest, Konkoly Thege u. 29-33.

A vékonyréteg elektroforézis különféle változatai a biokémia leggyakrabban használt elválasztási eljárásai közé tartoznak. Ezen eljárások eredményeképpen kapott elektroforetogramokban a különböző molekulásúlyú fehérjék vagy fehérje frakciók egymástól jól elkülönült vékony sávokban koncentrálnak. Ezeket a sávokat speciális festéssel teszik láthatóvá. Az elektroforetogramokból többnyire csak a molekulásúlyokat és az egyes sávokban lévő fehérje mennyiségét lehet viszonylag egyszerűen meghatározni, olyan fontos kérdések megválaszolására, hogy melyik sáv tartalmaz fémtartalmú metallofehérjét és abban milyen fém található, új megoldást kellett keresni.

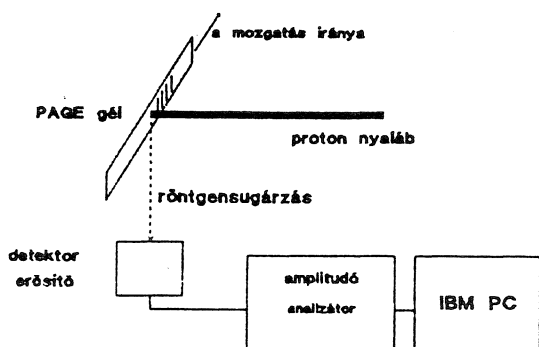
A hordozóban (poliakrilamid gél, agaróz, cellulózacetát membrán stb.) már megkötött fehérjék szennyeződés és veszteségmentes kivonása meglehetősen körülményes vállalkozás, és ha sikerül is, az így kapott anyagmennyiség olyan kevés, hogy szokásos kémiai módszerekkel nehezen analizálható. Vannak azonban olyan magfizikai eredetű analitikai módszerek, az úgynevezett nagy energiájú ionnyaláb technikák, melyek kifejezetten olyan esetekben használhatók igazán hatékonyan, ha kis anyagmennyiséget kell jól meghatározott helyen vizsgálni. A "nagy energia" azt jelenti, hogy olyan néhány MeV energiájú ionnyalábokról van szó, melyeket 1-5 MV feszültségű magfizikai gyorsító berendezésekkel lehet létrehozni és megfelelő fókuszálás után a vizsgálni kívánt mintára irányítani. A céltárgy atomjaihoz nagy sebességgel közeledő bombázó részecskék (az analitikai mérésekben leggyakrabban hidrogén, nehéz hidrogén, vagy hélium atommagok) ionizálják azok legbelső elektronhéjait. Az elektronszerkezet visszarendeződése során úgynevezett

karakterisztikus röntgensugárzás is keletkezik, melynek energiája szigorúan jellemző az öt kibocsájtó atom kémiai rendszámára, míg intenzitása szoros kapcsolatban van a szóbanforgó elem mennyiségével. Az ezen a folyamaton alapuló úgynevezett PIXE módszer egy mérésben képes mennyiségileg is kimutatni az alumíniumnál nehezebb, akár csak nyomnyi mennyiségben előforduló elemeket. Ha a bombázó részecske elegendően közel jut a céltárgy atommagjaihoz, magreakciók is bekövetkezhetnek, melyek kimenetele a röntgensugárzás keltésénél összehasonlíthatatlanul változatosabb lehet. A keletkezett sugárzás milyensége és energiája azonban ekkor is jellegzetesen függ a célmagtól, intenzitása pedig ezen magok számától, azaz magreakciók keltése is alkalmas analitikai vizsgálatokra. Ez az ANR technika a szóbanforgó és a gyorsítónkkal jól elérhető energiatartományban éppen a PIXE módszerrel nem mérhető könnyű elemekre (B,C,N,O, ...) érzékeny igazán, így az akár egyidejűleg is alkalmazható két módszer jól kiegészíti egymást [1].

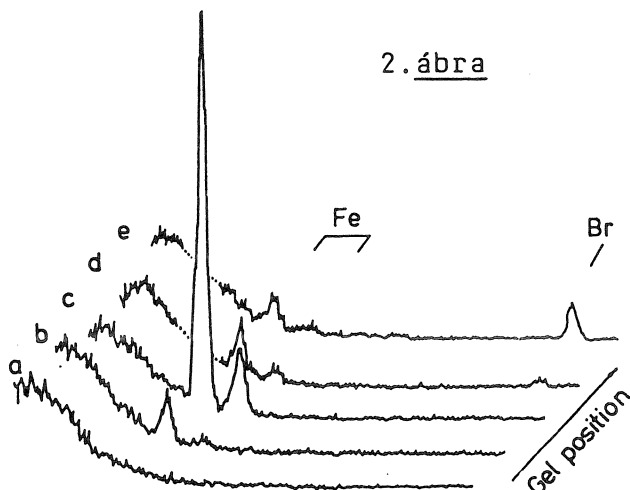
A fenti gyorsítós technikák közül először a PIXE módszert próbáltuk ki poliakrilamid gelelektroforézissel (PAGE) elválasztott metalloenzim sávok analízisére [2]. A mérési elrendezés vázlatát az 1. ábra mutatja. Az elgondolás lényege az, hogy a megfelelően megszárított csupasz géldarabot minden további kezelés nélkül 3 MeV energiájú és 0.5mm x 7 mm keresztmetsztű protonnyalábbal "letapogatjuk". Ha a gél károsodás nélkül elviseli a bombázást és a módszer elég érzékeny, akkor a fémtartalmú enzim sávjánál a röntgenspektrumban meg kell jelennie a megfelelő fém karakterisztikus vonalának. Az elgondolás sikerét a 2. ábra bizonyítja, melyen a modellanyagnak használt HiPIP (High Potential Iron-containing Protein) nevű enzimet tartalmazó gél különböző pontjain mért röntgen spektrumok láthatók .

A módszer kvalitatív használhatóságán azt is kimutattuk, hogy a PIXE-PAGE kombináció mennyiségi mérésekre is alkalmas. A vastartalmú fehérje sávra összegzett Fe röntgen intenzitások a gél elektroforézishez felhasznált fehérje mennyiségével arányosnak adódtak. De a módszertani fejlesztéssel

1. ábra



2. ábra

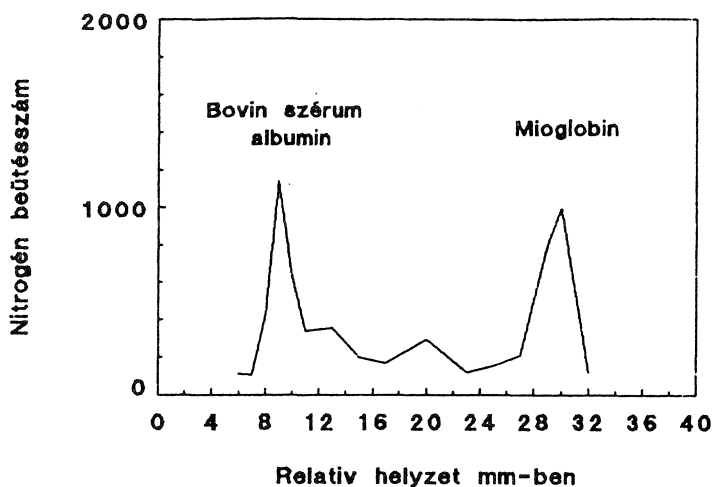


párhuzamosan már konkrét enzimológiai eredmények is születtek. Sikerült megmutatni, hogy a *Thiocapsa roseopersicina* baktériumból izolált hidrogenáz enzim vasat és nikkelt is tartalmaz és az SDS-el kezelt hidrogenáz esetében a Fe, illetve Ni ionok az enzim más-más alegységéhez kapcsolódnak.

Az eljárás még teljesebb lehetne akkor, ha egyidejűleg a sávok fehérjetartalmát is mérni lehetne. Ez utóbbit legkönnyebben a nitrogén tartalom mérésével lehet meghatározni. Nitrogént PIXE módszerrel nem, de alkalmas magreakcióval, pl. a $^{14}\text{N}(p,p',\gamma)^{14}\text{N}$ magreakció 4 MeV bombázó energia körüli rezonanciájával mérni lehet. (A nitrogén jelenlétét a reakcióban keletkező 2313 keV energiájú γ sugárzás feltünése jelzi.) Poliakrilamid hordozó esetén ez az út a gél saját nitrogéntartalma miatt sajnos nem járható, ezért a lehetőségeket nitrogénmentes cellulózacetát (CA) elektroforetogrammon tanulmányoztuk.

Az első eredmények biztatóak, amint azt a 3. ábra is mutatja [3]. Az ábrán a ^{14}N atommagoktól származó γ sugárzás hozamának változása látható egy olyan CA csík hossza mentén, mely bovin szérum albumin és miogloblin sávot is tartalmaz. A két N csúcs megfelel a két említett fehérjesávnak. Ez a mérés megfestett elektroforetogrammon történt, ezért nemcsak a

3. ábra N eloszlás két fehérjét tartalmazó CA elektroforetogram hossza mentén



fehérje, hanem a festék nitrogénjei is hozzájárultak a csúcsokhoz. A fém- és fehérjetartalom együttes kvantitatív meghatározásához vagy festetlen mintákon kell mérni, vagy ismerni kell a festéktől származó járulékos nitrogén pontos mennyiségét. (Az ionnyalábos technika egyébként értékes hozzájárulást adhat a különböző festések mennyiségi vonatkozásaira nézve is.)

Irodalom

- [1] L.Keszthelyi, L. Varga, I.Demeter, K. Hollós-Nagy, Z.Szőkefalvi-Nagy, *Anal. Biochem.* 139 (1984) 277
- [2] Z.Szőkefalvi-Nagy, Cs.Bagyinka, I.Demeter, K.L.Kovács, L.H.Quynh, *Biol. Trace Elem. Res.* 26-7 (1990) 93
- [3] Z.Szőkefalvi-Nagy and J.Räisänen, *Nucl. Instr. and Meth* B (to be published)

33rd IUPAC CONGRESS

BUDAPEST 17-22 AUGUST 1991

A magyar és nemzetközi tudományos élet nagy eseménye volt a nyáron a IUPAC kongresszus, amelynek szervezését a Magyar Tudományos Akadémia vállalta magára Pungor Ernő professzor vezetésével. A kongresszuson a nemzetközi és hazai kémikus társadalom 900-nál több képviselője vett részt, köztük három Nobel-díjas tudós is. A tudományos program hét szekcióban folyt s ezek a kémia minden területét felölelték.

I. Perspectives of Analytical Chemistry

II. Inorganic and Physical Chemistry

III. Electrochemistry and Electroanalysis

IV. Chemistry and Biochemistry of Biologically Active Organic Compounds

V. Biotechnology

VII/A. Polymeric Chemistry

VII/B. Polymeric Chemistry

A hét plenáris előadáson kívül a szekciónkénti munka ún. 'keynote' lecture-ökben és 'poster session'-ok formájában folyt. A biotechnológiai szekcióban 18 postert állítottak ki és 10 'keynote' előadásra került sor a következő témákban :

M.Moo-Young (Canada): Bioprocessing innovations for industrial biotechnologies

A.Moser (Austria): Bioreactors - a twofold aim according to a strategy in bioprocess technology

L.Szigeti (Magyarország): Modelling and optimization of bioprocesses

M.Ringpfeil (Németország) : Extremophilic microorganisms and chemical industry

K.Ch.A.M.Luyben (Hollandia) : Teaching biochemical engineering and the use of computer

A.I.Liapis (USA): Theoretical aspects of affinity chromatography

H.J.Rehm (Németország) : Possibilities for a production of some organic products with immobilized microorganisms

J.Holló (Magyarország) : Environmental biotechnology

M.Linko (Finnország) : Immobilization of enzymes and cells.

E.Falch (Dánia): Industrial enzymes - developments in production and application.

A biotechnológiai szekció plenáris előadását K.Schügerl (Hannover) tartotta "New trends in measurement and control of biotechnological processes" címmel. - Az előadások és poszterek kivonatainak kötete -e beszámoló szerzőjénél megtekinthető. A plenáris és 'keynote' előadások egy része a Magyar Kémiai Folyóíratban és az Acta Chimica Hungarica-ben kerül közlésre.

SEVELLA BÉLA

NEUROPEPTIDES

Neuropeptides (1990) 17, 111-116
© Longman Group UK Ltd 1990

0143-4179/90/0017-0111/\$10.00

Structural Determinants of the Binding of Gliadin Fragments to Human Peripheral Blood Lymphocytes +

M. HOLLÓSI*, H. SÜLI-VARGHA*, K. MEDZIHRADESKY*, G. D. FASMAN†, G. KUNOS‡ and L. GRÁFS

**Institute of Organic Chemistry and Peptide Research Group of the Hungarian Academy of Sciences, L. Eötvös University, H-1518 Budapest, Hungary, †Graduate Department of Biochemistry, Brandeis University, Waltham, Massachusetts, 02254-9110, USA, ‡Laboratory of Physiologic and Pharmacological Studies, NIAAA, Rockville, MD 20852, USA, §Biochemistry Department, L. Eötvös University, H-1088 Budapest, Hungary (Reprint requests to MH)*

Abstract—A series of α -gliadin fragments, structurally related to α -gliadin-(43-49), were synthesized. The effect of these fragments and β -casomorphin and naloxone on the steady-state binding of [125 I]- α -gliadin-(43-49) to human peripheral blood lymphocytes was investigated. In an attempt to correlate the binding data with the conformation of the peptides, their circular dichroism spectra were measured in both trifluoroethanol and aqueous solution. It was found that there is a striking correlation between the results of the binding studies and the chiroptical properties of the gliadin fragments. The presence of N-terminal tyrosine and the tendency of the peptides to adopt periodic, 3_{10} helix-like secondary structure appear to be crucial for the binding to human peripheral blood lymphocytes.

Abbreviations

Boc, t-butyloxycarbonyl; CD, circular dichroism; HPBL, human peripheral blood lymphocyte; TFE, trifluoroethanol; Z, benzyloxycarbonyl.

Introduction

Our previous finding that a selective opiate antagonist, naloxone, blocks the inhibitory effect of α -gliadin on leukocyte migration in celiac patients

(1) has prompted us to further study the interaction of different α -gliadin fragments with human peripheral blood lymphocytes (HPBL). A comparison of the amino acid sequence of α -gliadin with that of various opioid peptides directed our attention to a fragment, residues 43-49, of α -gliadin (2) which had been synthesized and tested for both leukocyte migration inhibition in patients with celiac disease (3), and specific binding to HPBL of normal individuals (4). These studies provided evidence that in celiac disease α -gliadin-(43-49) exerts an inhibitory effect on leukocyte migration similar to that of α -gliadin (3), and that

+Gráf professzor ennek a közleménynek a megjelenése nyomán kapott felkérést a 15. Nemzetközi Biokémiai Kongresszuson (Jeruzsálem, Izrael, 1991. augusztus 4-8) való előadás tartására. A 'Coeliac-activating gliadin peptides : structure and activity' c. előadás természetesen áttekintette az itt közreadott munka előzményeit is, amelyekről a BIOKÉMIA 1988. decemberi száma tájékoztatót.

Table 1 Gliadin Peptides Synthesized and Examined by Receptor-Binding Assay and CD Spectroscopy

Peptide structure	Residue numbers in the structure of α -gliadin
Tyr-Pro-Gln-Pro-Gln-Pro-Phe (YPQPQPF)	43-49
Tyr-Pro-Gln-Pro-Gln (YPQPQ)	43-47, 80-84
Pro-Gln-Pro-Gln (PQPQ)	44-47, 81-84
Tyr-Pro (YP)	43-44, 80-81
Tyr-Leu-Gln-Leu-Gln (YLQLQ)	55-59
Tyr-Ser-Gln-Pro-Gln (YSQPQ)	68-72, 87-91

the radiolabeled peptide specifically binds to HPBL of normal individuals (4). The functional relevance of the above findings, however, is not clear. A detailed study on the structural determinants of the binding of α -gliadin fragments to normal lymphocytes may represent one of several approaches to explore the functional and pathogenic significance of the effect of α -gliadin and its fragments on lymphocytes from celiac patients. Thus, a series of α -gliadin fragments (see Table 1) structurally related to α -gliadin-(43-49) were synthesized and, together with β -casomorphin and naloxone, their effect on the steady-state binding of [125 I]- α -gliadin-(43-49) to HPBL was investigated. In an attempt to correlate these binding data with the conformation of the peptides, their circular dichroism spectra were determined in both organic and aqueous solutions.

Experimental

Peptide synthesis

The synthesis of gliadin peptides was carried out by classical solution phase techniques (5) with stepwise elongation from the C-terminus. The carboxyl group of the C-terminal glutamine was protected with *t*-butylester. Z-Pro-OH was coupled by the mixed anhydride method, Z-Gln-OH through its *p*-nitrophenyl ester and Z-leu-OH with the aid of dicyclohexylcarbodiimide/1-hydroxybenzotriazole. Z-Ser-N₂H₃ and Boc-Tyr-N₂H₃ were used as intermediates in the coupling of the hydroxy amino acids. The Z-group was re-

moved by catalytic hydrogenolysis, the Boc and *t*-butylester groups by acidolysis with HCl/HCOOH. The protected tetra- and pentapeptides were purified on silica gel columns and their purity was checked by thin layer chromatography and elemental analyses. The homogeneity of the deprotected peptides was checked by amino acid analysis and HPLC.

Peptide radioiodination

The heptapeptide YPQPQPF was iodinated by the method of Hunter and Greenwood (6). To 0.1 ml of 0.2M phosphate buffer (pH 7.5), 10 nmoles of the peptide and 3 mCi sodium iodide [125 I] (Amersham) were added. Then 20 μ l of chloramine T (0.5 mg/ml) and, after 20s, 20 μ l of sodium metabisulfite (1 mg/ml) were added. The reaction mixture was applied to a Sep-Pak column prewashed with 15 ml of methanol and subsequently with 15 ml of distilled water. Then the column was washed with 15 ml of water, and the radiolabeled peptide was eluted with 2.5 ml of 50% methanol. The total amount of iodine was incorporated into the peptide, and the specific activity of [125 I] YPQPQPF was estimated to be 300 Ci/mmol.

Binding assay on HPBL

Lymphocytes were collected from paid donors using a Fenwal CS3000 cell separator (Department of Transfusion Medicine, NIH, Bethesda, MD, 20892). A modified platelet program was installed to provide a lymphocyte enriched and platelet poor product. 5000 ml of whole blood was processed over a 90 min period using a centrifuge speed of 1600 rpm and an interface of 100.

Prior to the binding assays lymphocytes were sedimented by centrifugation, and gently suspended in serum-free Dulbecco's Eagle Medium (Gibco). This procedure was repeated twice. The final purity of the lymphocytes was greater than 95%, and their viability was also greater than 95% as determined by the exclusion of trypan blue dye.

In the experiments designed to determine the saturability to HPBL binding of [125 I] YPQPQPF, a concentration of the radiolabeled ligand ranging from 20–180 nM without and with 10⁻⁴ M cold YPQPQPF was incubated with triplicate suspensions of 1 \times 10⁷ lymphocytes in a final volume of

0.2ml (Dulbecco's Eagle Medium) for 60 min at 2°C. The amount of bound radioactivity was determined by vacuum filtration using GF/C glass fiber filters (Whatman) presoaked in 0.1% bovine serum albumin for at least 5h. The filters were washed two times with 5ml of ice-cold buffer of 50mM Tris-HCl (pH 7.5) containing 10mM MgCl₂. The washing time never exceeded 2s. Radioactivity retained by the filters was measured by γ -spectroscopy. Specific binding was defined as the difference between total binding and nonspecific binding, the latter obtained in the presence of 10⁻⁴ molar cold ligand. Under our experimental conditions the level of non-specific binding to HPBL varied between 40 and 65% of total binding, higher than that previously obtained by centrifugation assay (4). An estimate of the K_D and binding site density by Scatchard analysis revealed a K_D of 122 ± 24nM and a single class of 500-700 binding sites per cell, respectively.

In studies on the displacement of specifically bound [¹²⁵I]YPQPQPF by different peptides and naloxone, conditions of the incubation and filtration were the same as described above. In all cases, the concentration of the radiolabeled ligand was 100nM and the concentration of the displacer varied between 10⁻⁴ and 3 × 10⁻⁸M.

Circular dichroism spectroscopy (CD)

CD spectra were recorded on a Jobin Yvon Dichrograph Mark V calibrated with d-camphor-sulfonic acid (7). Spectrograde trifluoroethanol (TFE) and water or 0.5% sodium chloride were used as solvents (CD spectra measured in sodium chloride solutions showed no significant difference from those taken in water). All measurements were done in 0.02 and 0.05cm cells. Peptide concentration was 0.3-0.6mg/mL. Mean residue ellipticity, [θ]_M, is expressed in deg cm² dmol⁻¹.

Results

Inhibition of the specific binding of [¹²⁵I]- α -gliadin-(43-49) to HPBL by related peptides and naloxone

Displacement curves obtained for different unlabeled ligands (inhibitors) were analyzed by the method LIGAND (8). This analysis revealed a single binding site for all the ligands tested, and the

inhibition constants (K_i) are listed in Table 2. It is of interest that the K_i obtained for unlabeled α -gliadin-(43-49) is identical with the K_D value of the iodinated heptapeptide (1.22 × 10⁻⁷M; see Experimental), indicating that iodination does not significantly affect the binding properties of α -gliadin-(43-49). The latter peptide and β -casomorphin were found to be equipotent in inhibiting ligand binding, whereas the pentapeptide analogs with Pro or Ser at positions 2 are significantly less potent displacers of the radiolabeled heptapeptide ligand (Table 2). The N-terminal dipeptide (Tyr-Pro) and a tetrapeptide fragment (Pro-Gln-Pro-Gln) of the ligand exhibited a displacing potency that was approximately two orders of magnitude less than that of α -gliadin-(43-49). The pentapeptide, Tyr-Leu-Gln-Leu-Gln, displaced only 42% of the radiolabeled ligand at a concentration of 10⁻⁴M. Interestingly, there was no difference between the affinities of the L- and D-stereoisomers of naloxone for the binding site of α -gliadin-(43-49).

Secondary structure of gliadin fragments as determined by CD spectroscopy

The CD spectra of gliadin fragments can be divided into two main groups. Common features of the CD spectra of the heptapeptide YPQPQPF and pentapeptides YPQPQ and YSQPQ (spectrum not shown) are a negative n π * band near 220nm and a negative $\pi\pi$ * band between 205-200nm (Fig. 1). However, in TFE the CD spectrum of the heptapeptide shows a strong positive

Table 2 Inhibition of The Binding of [¹²⁵I] α -Gliadin-(43-49) to Human Peripheral Blood Lymphocytes

Inhibitor	K _i , M (% CV)	No.
YPQPQPF	1.38 × 10 ⁻⁷ (16%) ^{xx}	1
YFPFGPI (β -casomorphin)	9.33 × 10 ⁻⁸ (16%)	2
YPQPQ	2.76 × 10 ⁻⁷ (11%) ^{xx}	3
YSQPQ	2.40 ± 10 ⁻⁷ (10%)	4
L-naloxone	5.21 × 10 ⁻⁷ (15%)	5
D-naloxone	5.10 × 10 ⁻⁷ (12%)	6
PQPQ	1.70 × 10 ⁻⁵ (8%) ^x	7
YP	5.42 × 10 ⁻⁵ (30%) ^x	8
YLQLQ	>1 × 10 ⁸	9

For 1 vs 3 and 7 vs 8 p < 0.01^{xx} and p < 0.05^x, resp., 1 vs 2, 3 vs 4 and 5 vs 6 are not significantly different.

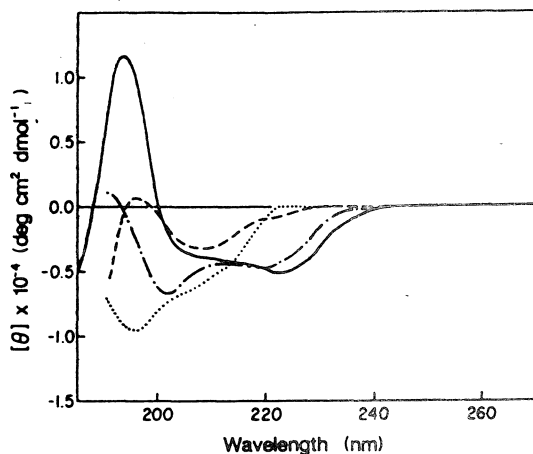


Fig. 1 CD spectra of YPQPQPF in TFE (—) and water (---) and YPQPQ in TFE (-·-·-) and water (.....); $c = 0.3 - 0.6 \text{ mg/mL}$.

band at 194 nm (Fig. 1) while the positive bands of the pentapeptides (Fig. 1) are rather weak and compare with the band intensity of the heptapeptide measured in water (Fig. 1). TFE is well known to have a secondary structure stabilizing effect (10). Thus, the spectral change observed for the heptapeptide in water compared to TFE may reflect a decreased order of the heptapeptide secondary structure. The pentapeptides, due to their shorter sequence, are less ordered even in TFE and the ordered character of the spectrum almost vanishes in water (Fig. 1).

The second group of spectra is characterized by an intensive negative $\pi\pi^*$ band below 200 nm. This spectral feature is shown by the des [Tyr] fragments PQQQ and SQPQ as well as by pentapeptide YLQLQ in both water and TFE (Fig. 2). CD spectra with a strong negative $\pi\pi^*$ band below 200 nm are observed for unordered polypeptides and proteins (9). When measured for small peptides, they may be indicative of conformational equilibria with a high population of conformers in which the backbone amide groups have aperiodic (unordered) relative positions (9).

The CD spectrum of peptides containing aromatic amino acids is composed of the spectral contribution of the backbone amide and side-chain aromatic chromophores. In TFE and water solution the CD spectra of salts of H-Tyr-NHCH₃ show

two positive bands near 225 and 200 nm ($[\theta]_M$ values for $\text{CF}_3\text{COOH} \cdot \text{H-Tyr-NHCH}_3$ in TFE are 7360 and 3530, respectively). Deprotonation leads to a definite intensity decrease of the higher wavelength band ($[\theta]_M^{224} = 3960$, $[\theta]_M^{201} = 2840$ in TFE). The band which appears near 225 nm in the spectra of tyrosine-containing peptides is attributable to the L_a transition of the aromatic chromophore (11). At $\chi_1 \approx -60^\circ$ (g^- side-chain conformation of tyrosine), interaction of the aromatic chromophore with the nearest-neighbor peptide group(s) was suggested to result in a positive L_a band (11). Consequently, the CD spectrum in TFE of YLQLQ (Fig. 2) reflects the occurrence of conformer populations with a more or less fixed g^- aromatic side-chain but no periodic backbone conformation. In the spectra of unordered des [Tyr] gliadin peptides (Fig. 2) the band near 225 nm is absent.

The spectra in TFE of YPQPQ, YSQPQ and YPQPQPF are dominated by the CD contribution of the peptide backbone (no positive bands appear above 200 nm). The spectra (Fig. 1) show a resemblance to the class C CD spectrum defined first by Woody (12). The C spectrum is characterized by a negative $n\pi^*$ band (or shoulder) near 220 nm, and a negative $\pi\pi^*$ couplet with bands between 205-200 nm and near 190 nm. It has been found that the C spectrum is indicative of a *cis'* L-proline residue

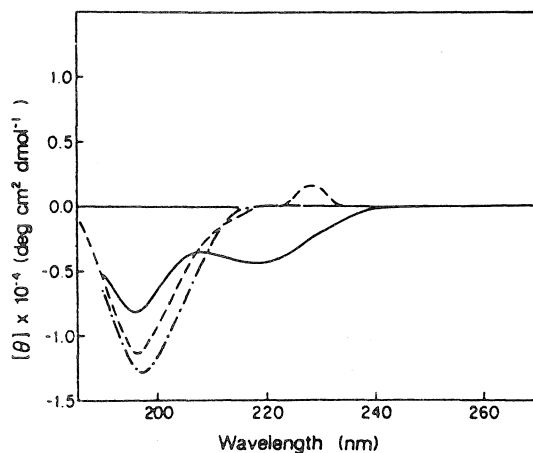


Fig. 2 CD spectra of YLQLQ in TFE (-·-·-) and PQQQ in TFE (—) and water (.....); $c = 0.3 - 0.6 \text{ mg/mL}$.

($\phi \approx -70^\circ$, $\psi \approx -50^\circ$) (13). Proline is well known to have a high frequency of occurrence in β -turns (14). When a *cis'* L-proline residue is in the 2nd position, the turn is likely to be of type 1 ($\phi^2 = -60^\circ$, $\psi^2 = -30^\circ$, $\phi^3 = -90^\circ$, $\psi^3 = 0^\circ$) (15). But a *cis'* L-proline residue can also fit into a type III β -turn ($\phi^{2,3} = -60^\circ$, $\psi^{2,3} = -30^\circ$) (15) or a 3_{10} helix ($\phi = -60^\circ$, $\psi = -30^\circ$). Indeed, the CD characteristics of 3_{10} helices were found to be similar to those of short segments of an α -helix (16, 17). Consequently, the C spectrum of YPQPQPF in TFE (Fig. 1) may reflect a significant amount of conformers which adopt a periodic, 3_{10} -like backbone structure, while the pentapeptide fragments are likely present as mixtures of periodic and unordered conformers.

Discussion

Correlation between binding properties and conformation of gliadin fragments

There is a striking correlation between the results of the binding studies and the chiroptical properties of α -gliadin fragments. Heptapeptide YPQPQPF was used as a ligand in the binding studies (Table 2). This heptapeptide was found to have CD spectra in both TFE and water with the most expressed C-type character as compared to those of other fragments used as displacers of the heptapeptide binding to HPBL (compare Figs. 1 and 2). These secondary structural features appear to be crucial for the binding affinity of the heptapeptide (Table 2) since its N-terminal pentapeptide analogs with Pro or Ser at positions 2 with similar chiroptical properties (Fig. 1) were found to be potent inhibitors of the heptapeptide binding (Table 2). In contrast, pentapeptide YLQLQ without detectable C-type ordered conformation (Fig. 2) was unable to displace the heptapeptide from its binding site on HPBL (Table 2). Intermediate K_i values, about two orders of magnitude smaller than that for the heptapeptide, were obtained for peptides PQPQ and YP (Table 2) lacking either the N-terminal tyrosine or the length of the peptide chain. Based on these data we propose that the binding of peptides to the gliadin (heptapeptide) site of HPBL requires both the presence of tyrosine in the peptide and the ability

of the molecule to adopt a periodic 3_{10} -like secondary structure. Clearly, the latter structure is stabilized by the presence of the N-terminal tyrosine residue (compare Figs 1 and 2).

Based on its sequence analogy with the heptapeptide, β -casomorphin (YPFPGPI) was also used as reference in testing the validity of the cooperativity hypothesis. As indicated by the low K_i value ($\sim 1 \times 10^{-7}$ M), β -casomorphin and the heptapeptide fragment of gliadin have the same affinity to the binding site of peptide YPQPQPF. As expected on the basis of their analogous repeating primary structure (YPXPXPX), the two peptides have similar CD spectra in TFE. Both peptides show C-like spectra with a positive band of comparable λ_{\max} value and intensity (Fig. 1, the spectrum of β -casomorphin is not shown). The increased intensity of the negative band at 207.5 nm in the spectrum of β -casomorphin may, however, reflect a difference in the backbone conformation or, more likely, in the aromatic contribution due to the possible close steric positions of side-chains of tyrosine and phenylalanine in β -casomorphin.

Possible structural determinants of gliadin and naloxone binding to HPBL

An interesting result of the binding experiments is that the L- and D-naloxone have the same inhibitory effect on the binding of the radiolabeled heptapeptide (Table 2), which is different from the stereoselective binding of L-naloxone to the opiate receptor. The L- and D-forms of naloxone feature non-superimposable mirror-image ring systems but the distance between the phenolic OH group and the ring nitrogen is the same in both stereoisomers. Accordingly, the necessary condition for ligand binding to the gliadin receptor may be a well-defined OH-N distance. In the case of peptide ligands, this condition is fulfilled only when the peptide backbone adopts a periodic secondary structure. The type C circular dichroism spectra in TFE of peptides with low K_i values may indicate that it is the ordered backbone conformation which fixes the favoured OH-N distance at the N-terminus of potent gliadin fragments.

These possible structural determinants of gliadin (fragments) binding to HPBL, however, are

clearly not identical with the still debated structural requirements of binding opioid peptides to their receptors in the central nervous system. As we have pointed out in a previous study (3), the lymphocyte binding sites for α -gliadin fragments must be different from the opioid receptors in the brain and peripheral organs since these peptides exhibit no significant activity in the conventional (brain membrane binding, peripheral organ) opiate receptor assays (3). Nevertheless, lymphocyte binding sites for some gliadin fragments (Table 2), though distinct from the known opiate receptors, may bear some resemblance to them. This view might explain some of the obscure and debated effects of morphine, naloxone and opioid peptides on the immune system (for review see ref. 18). The lack of convincing evidence for a stereospecific opiate receptor binding on cells of the immune system (18, 19), for example, may be due to the fact that these binding sites are not strictly opioid ones, but are more similar to or identical with those characterized in the present work. Further careful studies are needed, however, to establish a clear relationship between the *in vitro* and *in vivo* effects of opioid and gliadin peptides on the immune system.

Acknowledgements

This work was supported in part by a grant from NSF (DMB-8713193). We thank Dr. Tibor Szentendrei for his help in the analysis of the binding data.

References

1. Horváth, K., Gráf, L., Walcz, E., Bodánszky, H. and Schuler, D. (1985). Naloxone antagonises effect of α -gliadin on leukocyte migration in patients with coeliac disease. *The Lancet* ii: 184-185.
2. Kasarda, D. D., Okita, T. W., Bernardin, J. E., Baecker, P. A., Nimmo, C. C., Lew, E. J.-L., Dietler, M. D. and Greene, F. C. (1984). Nucleic acid (cDNA) and amino acid sequences of α -type gliadins from wheat (*Triticum aestivum*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 4712-4716.
3. Gráf, L., Horváth, K., Walcz, E., Berzétei, I. and Burnier, J. (1987). Effect of two synthetic α -gliadin peptides on lymphocytes in celiac disease: Identification of a novel class of opioid receptors. *Neuropeptides*, 9: 113-122.
4. Payan, D. G., Horváth, K. and Gráf, L. (1987) Specific high-affinity binding sites for a synthetic gliadin heptapeptide on human peripheral blood lymphocytes. *Life Sci.* 40: 1229-1236.
5. Bodánszky, M. and Bodánszky, A. (1984). *The Practice of Peptide Synthesis* (Springer-Verlag).
6. Hunter, W. M. and Greenwood, F. C. (1962). Preparation of iodine-131 labelled human growth hormone of high specific activity. *Nature* 194: 495-496.
7. Adler, A. J., Greenfield, N. J. and Fasman, G. D. (1973). Circular dichroism and optical rotatory dispersion of proteins and polypeptides. *Methods in Enzymol.* 27: 675-735.
8. Munson, P. J. and Rodbard, D. (1980). LIGAND: A versatile computerized approach for characterization of ligand-binding systems. *Anal. Biochem.* 107: 220-239.
9. Greenfield, N. and Fasman, G. D. (1969). Computed circular dichroism spectra for the evaluation of protein conformation. *Biochemistry* 8: 4108-4116.
10. Urry, D. W., Masotti, L. and Krivacic, J. R. (1971). Circular dichroism of biological membranes. I. Mitochondria and red blood cell ghost. *Biochim. Biophys. Acta* 241: 600-612.
11. Woody, R. W. (1978). Aromatic side-chain contributions to the far ultraviolet circular dichroism of peptides and proteins. *Biopolymers* 17: 1451-1467.
12. Woody, R. W. (1974). Studies of theoretical circular dichroism of polypeptides: contribution of β -turns. in *Peptides, Polypeptides and Proteins*, eds. Blout, E. R., Bovey, F. A., Lotan, N. and Goodman, M. (Wiley, New York), pp. 338-360.
13. Gierasch, L. M., Deber, C. M., Madison, V., Niu, C.-H. and Blout, E. R. (1981). Conformations of (X-L-Pro-Y)₂ cyclic hexapeptides. Preferred β -turn conformers and implications for β -turns in proteins. *Biochemistry* 20: 4730-4738.
14. Smith, J. A. and Pease, L. G. (1980). Reverse turns in peptides and proteins. *CRC Crit. Rev. Biochem.* 8: 325-399.
15. Ventkatachalam, C. M. (1968). Stereochemical criteria for polypeptides and proteins. V. Conformation of a system of three linked peptide units. *Biopolymers* 6: 1425-1436.
16. Francis, A. K., Iqbal, M., Balaram, P. and Vijayan, M. (1983). The crystal structure of a 3_{10} helical decapeptide containing α -amino isobutyric acid. *FEBS Lett.* 155: 230-232.
17. Sudha, T. S., Vijayakumar, E. U. S. and Balaram, P. (1983) Circular dichroism studies of helical oligopeptides. Can 3_{10} and α -helical conformations be chiroptically distinguished? *Int. J. Peptide Protein Res.* 22: 464-468.
18. Sibinga, N. E. S. and Goldstein, A. (1988). Opioid peptides and opioid receptors in cells of the immune system. *Ann. Rev. Immunol.* 6: 219-249.
19. Madden, J. J., Dohanoe, R. M., Zwemer-Collins, J., Shafer, D. D. and Falek, A. (1987). Binding of naloxone to human T lymphocytes. *Biochem. Pharmacol.* 36: 4103-4109.

BIOKONJUGÁTUMOK A TUMORDIAGNOSZTIKÁBAN ÉS TERÁPIÁBAN (Beszámoló egy angliai együttműködésről)

1988/89-ben a nottingham-i egyetemen működő Cancer Research Campaign (CRC) R.W. Baldwin professzor által vezetett laboratóriumában 10 hónapig dolgozhattam meghívott vendégkutatóként. A tanulmányútnak folytatása lett, így 1990 elején az European Association for Cancer Research ösztöndíjával 1 hónapot, ugyanez év végén a Biochemical Society kezelésében levő Unilever Travel Fellowship segítségével 2 hónapot (lásd erről: *The Biochemist*, 13, 27, 1991), 1991 nyarán pedig CRC ösztöndíjjal újabb 2 hónapot tölthettem Nottinghamban. Az első tanulmányút során kialakult munkakapcsolat tudományos együttműködéssé bővült, s ma már közös kutatási projectek alapján folynak a kísérletek Nottingham-ben és az ELTE-n működő MTA Peptidkémiai Tanszéki Kutatócsoportban. Az alábbiakban e kutatások két téma köré csoportosítható eredményeit szeretném vázlatosan bemutatni.

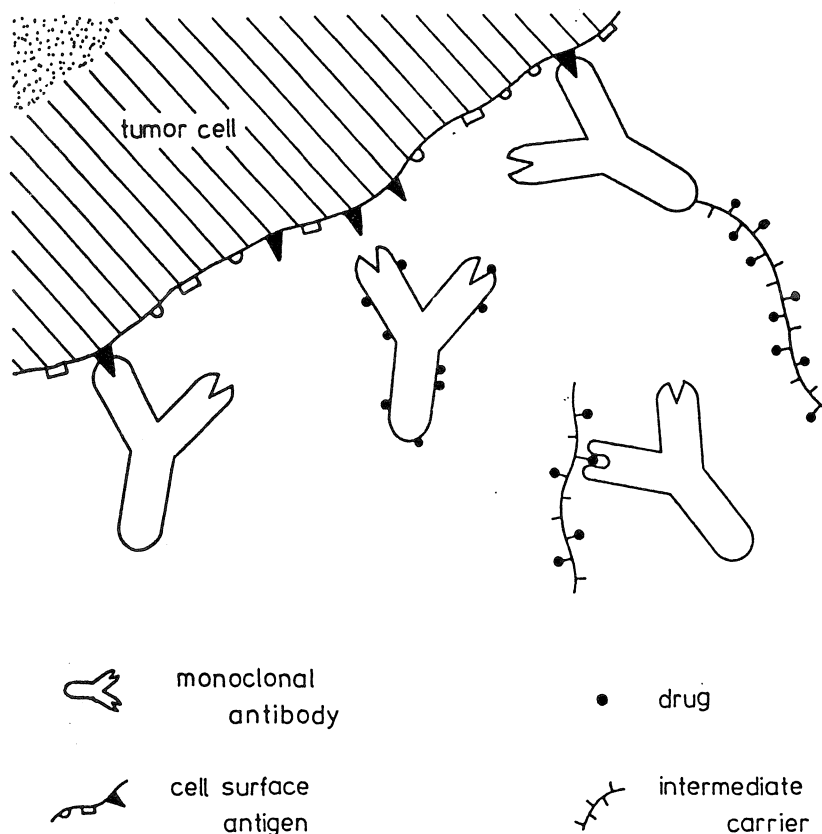
A rosszindulatú daganatos megbetegedések terápiájában és elsősorban a metasztázisok korai diagnosztikájában nagy várakozás előzte meg a tumorasszociált antigénekre specifikus monoklonális ellenanyagok (MoEl) hozzáférhetőségét. A különböző, MoEl által mediált immunreakciók terápiás hatékonyságának vizsgálata mellett már a kutatások korai szakaszában felmerült a MoEl-ok felhasználása különböző tumorelleses szerek szelektív célbajuttatására. A kemoterápiában használatos vegyületek (pl. 5-fluoro-uracil, daunomycin, methotrexat) káros mellékhatásait ugyanis nagymértékben csökkenteni, terápiás indexét pedig növelni lehetne, ha csak a kívánt sejteken fejthetnék ki hatásukat. A probléma megoldására elsőként e - rendszerint több funkciós csoporttal rendelkező vegyületeket - közvetlenül kapcsolták kovalens kötéssel a megfelelő specificitású MoEl-hoz. Az optimális kötéstípus kiválasztásának, a konjugátumok reprodukálható szintézisének, korrekt kémiai és biokémiai jellemzésének módszertana kialakulatlan, szisztematikus kísérletek hiányában a megoldások esetiek, empirikusak. Munkánk során a daunomycin (Dau) es

több, egymástól eltérő sajátságú MoEl modellként történő felhasználásával olyan módszert dolgoztunk ki, amely figyelembe veszi mind a kapcsolni kívánt kismolekula, mind pedig a MoEl sajátságait és ezekre építve lehetővé teszi a kapcsolási eljárás optimalizálását, biztosítja a reprodukálható szintézist (1). E megközelítés alkalmas a diagnosztikai célú MoEl-jelzőmolekula (pl. fluoroforok, radionuklidok) konjugátumok tervezésénél is.

Az egyes preparátumok szabad Dau tartalmának meghatározására nagy pórusméretű hordozón, fordított fázisú HPLC eljárást dolgoztunk ki (1). E módszer segítségével tanulmányozhattuk a klinikai kipróbálásra készült methotrexat (MTX)-791T/36 (az angliai kutatócsoport által előállított osteosarcoma sejtekre specifikus MoEl, amely egyike az első humán tumorspecifikus ellenanyagoknak) konjugátumok kémiai stabilitását. Megállapítottuk, hogy a szintézis körülményeitől függően e konjugátumok ellenanyaghoz kötött MTX tartalmának akár 30%-a is elhidrolizálhat a tárolás során (2). Az aktiv észteres kapcsolás során ugyanis nemcsak amidkötések jöhetnek létre a Lys oldalláncon, hanem könnyen hidrolizáló észterkötések is a Thr/Ser és az MTX között.

A tumorellenes szerek közvetlen kapcsolása MoEl-hoz csak korlátozott számú kismolekula bevitelét teszi lehetővé anélkül, hogy lényegesen csökkentené a fehérje célfelismerő képességét (1.ábra). A maximálisan bevihető molekulák számát minden esetben a MoEl primer szerkezete és konformációja határozza meg, ezért ez az érték fehérjéről fehérjére változik (1). Ennek figyelembevételével a kutatások egyik iránya olyan "sejtmérgeket" keres, amelyekből kevés is elegendő a célsejt elpusztításához (ilyenek pl. a toxinok). Egy másik irányzat pedig közvetítő hordozók beiktatásával kívánja növelni az egyetlen MoEl molekulával bevihető citosztatikumok mennyiségét (1.ábra). Ezekhez a kutatásokhoz kapcsolódtunk, amikor a Peptidkémiai Kutatócsoportban - Dr. Szekerke Mária tud. tanácsadó irányításával - kifejlesztett szintetikus, elágazó láncú polipeptidek intermedier hordozóként való kipróbálását javasoltuk nottingham-i partnereinknek.

A polilizin gerincű polimer polipeptidek új családját szerkezeti szempontból - oldatbeli térszerkezetüket elsőként vizsgálva - sokoldalúan jellemeztük az elmúlt években (3,4). E biodegradábilis (5) polipeptidek



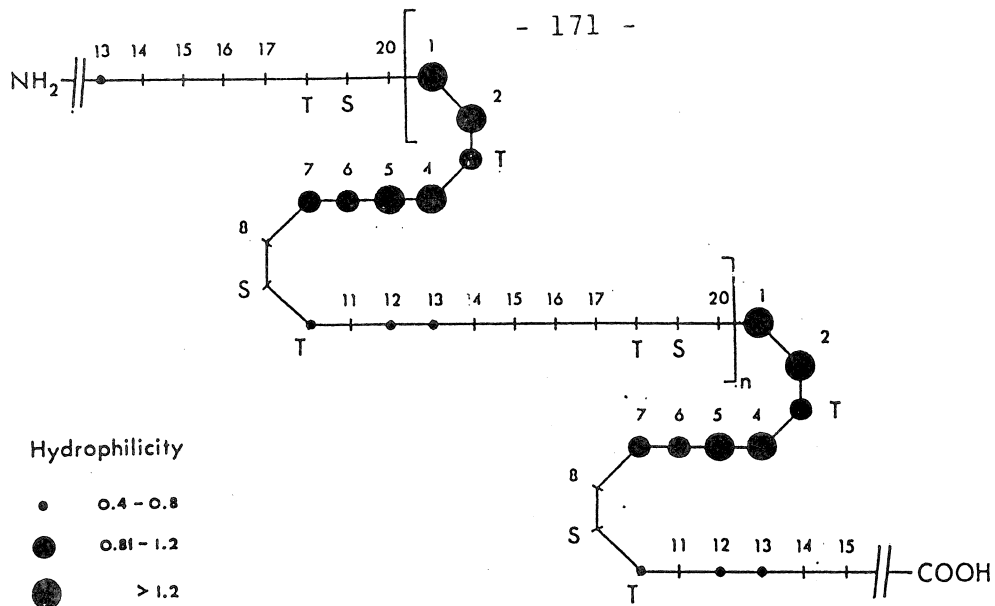
1. ábra Tumorellenes szerek bejuttatása tumorsejtbe hordozó nélkül, MoEl-hoz közvetlenül kapcsolva, MoEl-hoz kovalens közvetítő hordozón keresztül konjugálva, valamint kettős specificitású MoEl-komplex segítségével.

immunológiai jellemzése (6,7,8,9) és in vitro toxicitás vizsgálata (6,9) lehetővé tette olyan variánsok kiválasztását, amelyek nem immunogének és toxikus hatást sem mutatnak. A közvetítő-hordozói alkalmazás szempontjából ugyanakkor lényeges lépés biodisztribúciós sajátosságok feltérképezése. Ezért került sor e téren is szerkezet - funkció típusú vizsgálatokra. A radioaktívan jelzett polipeptidok szerkezetbeni (ezen belül véráramból történő kilépés, szerveleszlás) jelenlétét tanulmányozva megállapítottuk a molekula töltésviszonyainak kiemelkedő szerepét, valamint az oldalláncokban szereplő D-aminosavak fontosságát (10). A jódozásokon kívül, alternatív módszert fejlesztettünk ki e vegyületfélésegek indiummal történő jelzésére is (11).

A tumorellenes szerek közül a már említett Dau, valamint a MTX kapcsolására dolgoztunk ki és valósítottunk meg szintézis stratégiát. A konjugátumok jellemzésére az összetétel meghatározásán kívül elsőként vezettük be a CD spektroszkópiás konformációvizsgálatot. A polikation, valamint amphoter jellegű elágazó láncú polipeptideket tartalmazó konjugátumok biodisztribúcióját tanulmányozva megállapítottunk, hogy a vizsgált szubsztitúciós tartományban a hordozó sajátosságai determinálják a konjugátumok szerkezetbeli sorsát (12-15). A monoklonális ellenanyaghoz történő kapcsolat szempontjából a hozzá hasonló jellegzetességeket mutató amphoter polipeptid - Dau/MTX konjugátumok jöhetnek szóba. A tumorsejteken végzett in vitro toxicitási vizsgálatok bizonyították, hogy a hordozóhoz kapcsolat általában csökkenti a citotoxicitást, de ez a csökkenés bizonyos szerek esetén (pl. Dau) részben ellensúlyozható a polipeptid hordozó helyes megválasztásával (13,15). Terveink szerint a továbbiakban monoklonális ellenanyaghoz kapcsoljuk a fenti szempontokból optimálisnak talált polipeptid - Dau konjugátumokat és állatkísérletekben xenograftokon próbáljuk ki terápiás hatékonyságukat.

A másik kutatási témakör, amelybe peptidkémikusként alkalmam nyílt bekapcsolódni az epithelium sejtekből származó mucin glikoproteinek antigénszerkezetének feltárásával foglalkozik. Ezek a nagy molekulatömegű fehérjék O-glikozidos kötésben tartalmaznak szénhidrát láncokat, amelyeknek hibás vagy nem teljes kiépülése összefüggésbe hozható bizonyos carcinomák (pl. az emlő vagy vastagbél tumorok esetében) szerkezetbeni jelenlétével (16).

E megfigyelés alapján kézenfekvőnek tűnik olyan monoklonális ellenanyagok kifejlesztése, amelyek különbséget képesek tenni az ép és a hibás szerkezetű fehérjék között. Diagnosztikumként történő bevezetés esetén hatékony, gyors és olcsó módszere lehet a korai felismerésnek. A CRC laboratóriumba érkezésemkor sikerült először előállítani és jellemezni azt a MoEl-ot, [C 595], amely csak a fehérjerészt ismeri fel (17). A glikoprotein gerincét képező polipeptidláncról ismert volt, hogy benne egy 20 aminosavból álló szakasz ismétlődik többszörösen (18). Először predikciós módszerek kombinációjával, az ismétlődéseket is figyelembe véve megpróbáltuk előre jelezni azt a régiót, amely antigéndeterminánsként működhet a fehérjében (2. ábra). A C595 specificitásának meghatározására először az ismétlődő motívum kisebb



2. ábra Az epitheliális mucin glikoprotein polipeptidláncának aminosavsorrendje, predikcióval jóslt másodlagos szerkezete és hidropátiás profilja.

fragmenseit készítettük el szilárd fázisu peptidszintézissel, majd marha szérum albuminnal képzett konjugátumaik és átlapoló peptidek kötődését vizsgáltuk ELISA-val. E kísérletek alapján sikerült lokalizálni a 20-as szakasz N-terminálisán - a számítógépes predikcióval jelzett részen - egy domináns epitoprégiót, amelynek β -kanyar képző hajlamát NMR spektroszkópiával valószínűsíteni lehetett (19). Cirkuláris dichroizmus méréseink nemcsak megerősítették az NMR eredményeket, de arra is lehetőséget nyújtottak, hogy az epitop környezetében jelenlevő aminosav-, di- vagy tripeptidrészek térszerkezetet befolyásoló hatását elemezzük (20).

Az epitoprégiót tartalmazó peptid makromolekulához kapcsolva alkalmasnak bizonyult a szintetikus antigének tervezésénél felmerülő kérdések egyikének tanulmányozására: sok esetben ugyanis az antigéndetermináns önmagában nem vagy csak gyengén immunogén, ezért hordozóhoz kapcsolásuk szükséges, de ez nem feltétlenül eredményes az immunizálás szempontjából. E konjugálás következtében ugyanis az epitop "megjelenését" nemcsak saját szerkezete, hanem a hordozóhoz való kapcsolódás módja, a hordozó konformációja is nagymértékben meghatározza. Kísérleteinkkel kimutattuk, hogy az elágazó láncu polipeptid típusu makromolekuláris hordozó térszerkezetének rendezettsége előnyösen befolyásolja a peptid epitóp MoEl által történő felismerhetőségét (21).

Hivatkozások

1. Hudecz, F., Ross, H., Price, M.R., Baldwin, R.W.: Immunoconjugate design: a predictive approach for coupling of daunomycin to monoclonal antibodies. *Bioconjugate Chemistry* 1: 197-204 (1990)
 2. Hudecz, F., Garnett, M.C., Khan, T., Baldwin, R.W.: The influence of synthesis conditions on stability of methotrexate (MTX)-monoclonal antibody conjugates determined by reversed phase HPLC. *Biomedical Chromatography* (in press)
 3. Hudecz, F., Votavova, H., Gaál, D., Sponar, J., Kajtár, J., Blaha, K., Szekerke, M.: Branched polypeptides with a poly(L-lysine) backbone: synthesis, conformation and immunomodulation. In: *Polymeric Materials in Medication*. (Eds.: Gebelein, Ch.G., Carraher, Ch.E.). Plenum Press, New York, 1985. pp. 265-289.
 4. Mező, G., Hudecz, F., Kajtár, J., Szókán, Gy., Szekerke, M.: The influence of the side chain sequence on the structure-activity correlations of immunomodulatory branched polypeptides. Synthesis and conformational analysis of new model polypeptides. *Biopolymers*, 28: 1801-1826 (1989).
 5. Hudecz, F., Kutassi-Kovács, S., Mező, G., Szekerke, M.: Biodegradation of synthetic branched polypeptide with poly(L-lysine) backbone. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 370: 1019-1026 (1989).
 6. Gaál, D., Hudecz, F., Kovács, A.L., Szekerke, M.: Immunomodulatory effect of synthetic branched polypeptides. II. *J. Biol. Resp. Modifiers* 5: 148-159 (1986).
 7. Rajnavölgyi, É., Hudecz, F., Mező, G., Szekerke, M., Gergely, J.: Isotype distribution and fine specificity of the antibody response of inbred mouse strains to four compounds belonging to a new group of synthetic branched polypeptides. *Mol. Immunol.* 23: 27-37 (1986).
 8. Rajnavölgyi, É., Lányi, A., Hudecz, F., Kurucz, I., Kiss, Á., Laszló, G., Szekerke, M., Gergely, J.: Structural characteristics influencing the carrier function of synthetic branched polypeptides based on poly/Lys-(DL-Ala) / backbone. *Molec. Immunol.* 26: 949-959 (1989)
- 3
9. Hudecz, F., Gaál, D., Kurucz, I., Lányi, Á., Kovács, A.L., Mező, G., Rajnavölgyi, É., Szekerke, M.: Carrier design: cytotoxicity and immunogenicity of synthetic branched polypeptides with poly(L-Lys) backbone. *J. Controlled Release* (in press)

10. Clegg, J.A., Hudecz, F., Mező, G., Pimm, M.V., Szekerke, M., Baldwin, R.W.: Carrier design: biodistribution of branched polypeptides with poly-(L-lysine) backbone. *Bioconjugate Chem.*, 2: 425-430 (1990)
11. Pimm, M.V., Clegg, J.A., Hudecz, F., Baldwin, R.W.: In-111 labelling of a branched polypeptide drug carrier with a poly(L-lysine) backbone. *Int.J.Pharmaceutics* (in press)
12. Clegg, J.A., Hudecz, F., Pimm, M.V., Baldwin, R.W.: Biodistribution studies in mice with synthetic polypeptide-drug conjugates. *Br. J. Cancer* 62: 532 (1990)
13. Hudecz, F., Clegg, J.A., Kajtár, J., Embleton, M.J., Szekerke, M., Baldwin, R.W.: Synthesis, conformation, biodistribution and in vitro cytotoxicity of daunomycin-branched polypeptide conjugates. *Bioconjugate Chem.* (in press)
14. Clegg, J.A., Hudecz, F., Embleton, M.J., Baldwin, R.W.: In vitro cytotoxicity and biodistribution studies with synthetic branched polypeptide-methotrexate conjugates. *Br. J. Cancer* 63: 44 (1991)
15. Hudecz, F., Embleton, M.J., Kajtár, J., Clegg, J.A., Szekerke, M., Baldwin, R.W.: Synthesis, conformation, biodistribution and in vitro cytotoxicity of methotrexate-branched polypeptide conjugates. (manuscript in preparation)
16. Price, M.R.: High molecular weight epithelial mucins as markers in breast cancer. *Eur.J.Cancer Clin.Oncol.* 24: 1799-1804.
17. Price, M.R., Pugh, J.A., Hudecz, F., Griffith, W., Jacobs, E., Clarke, A.J., Chan, W.C., Baldwin, R.W.: C595 - a monoclonal antibody against the protein core of human urinary epithelial mucin commonly expressed in breast carcinoma. *Br. J. Cancer Res.* 61: 681-686 (1990)
18. Gendler, S., Taylor-Papadimitriou, J., Duhig, T., Rothbard, J., Burchell, J.: A highly immunogenic region of a human polymorphic epithelial mucin expressed by carcinomas is made up of tandem repeat. *J.Biol.Chem.* 263, 12820-12823 (1988)
19. Price, M.R., Hudecz, F., O'Sullivan, C., Baldwin, R.W., Edwards, Ph.M., Tendler, S.J.B.: Immunological and structural features of the protein core of human polymorphic epithelial mucin. *Molec. Immunol.* 27, 795-802 (1990)

ANTONI FERENC

(1928 – 1991)

Dr. ANTONI FERENC professzor, biokémikus, a MTA rendes tagja, a Semmelweiss Orvostudományi Egyetem 1.sz.Kémiai-Biokémiai Intézetének igazgatója 1991.október 8-án, életének 64.évében váratlanul elhunyt.

Antoni professzor az Orvosegyetem elvégzése után az akkori Budapesti Orvostudományi Egyetem Biokémiai Intézetében lett tanársegéd és kezdte meg kutatói-oktatói tevékenységét. Sokoldalú, eredményes és tartalmas tudományos pályát futott be, munkásságában a tudományos kutatás mellett fontos szerepet kapott oktatási és tudományszervezői munkája. Emellett több oldalú és színes társadalompolitikai tevékenységet is kifejtett. Kutatómunkájának egyik fontos területe az ionizáló sugarak biológiai hatására, a hatások ipari alkalmazására, különösen a sugársterilizálásra vonatkozott. Ez irányú munkásságának kiváló környezetet adott Bécsben a Nemzetközi Atomenergia Ügynökség Biológiai osztálya, ahol 1964-1969 között munkatársként, majd osztályvezetőként dolgozott, továbbá a hazai Országos 'Frédéric Joliot Curie' Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutatóintézet, ahol kutatási osztályvezetőként és igazgatóhelyettesként működött. E témában igen kiterjedt nemzetközi kapcsolatokot épített ki, s ezek későbbi munkájában is igen hasznosnak bizonyultak.

1970.július 1.-ével nyert tanszékvezetői egyetemi tanári kinevezést. Érdeklődése ekkor az immunfolyamatok biokémiai szabályozása felé fordult. Sikerrel alkalmazta vizsgálati modellként az emberi tonsilla eredetű limfocitákat és az egér makrofág sejtjeit. Szerette hangsúlyozni a biokémia orvosi vonatkozásai iránt érzett érdeklődését, az orvosi biokémia fontosságát. 1973-1979 között a Semmelweiss Orvostudományi Egyetem rektora volt. Kiemelkedő szerepet játszott a MTA-SOTE Egyesített Kutatási Szervezet létrehozásában és kiépítésében. A nyolcvanas években táplálkozástudományi és környezetvédelmi kérdésekkel is foglalkozott s ezekben a témákban kutatási és szervezői tevékenységet egyaránt kifejtett.

Antoni professzor 1969-ben nyerte el a tudományok doktora címet, 1976-ban választották a MTA levelező tagjává, 1985-ben pedig rendes tagjává. Tudományos tevékenységét 270 közlemény és 6 könyv szerzősége, ill. társszerzősége jellemzi. Világlátott kutató volt, talán éppen ennek következtében rendelkezett igen széles látókörrrel és ehhez kapcsolódó józan ítélőképességgel. Számos hazai tudományos társaság tagja és vezetőségi tagjaként, a fiatal kutatók és oktatók elkötelezett pártfogójaként tartották számon. Színes előadásait a orvosok élvezettel hallgatták. Kitüntetései közül említést érdemel a Bari Egyetem Minerva Aranyérme, a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Jancsó Miklós emlékérmé, a Brüsszeli Egyetem 'Bruxelles Libré' emlékérmé, az 'Osztrák Köztársaságért Érdemrend' arany fokozata és a Semmelweiss emlékérem.

BÚCSÚ ANTONI FERENCTŐL

Dr. Antoni Ferenc akadémikus korai halálával súlyos veszteség érte a biokémikus társadalmat. Gyászoljuk a nemzetközi hírű tudóst, a kiváló oktatót, s a magyar biokémikusok szervezeti és társadalmi problémáit egyaránt szívéen viselő kollégát. Búcsúzunk a magyar biokémikus társadalom hivatott, mindig töprengő, vitára és munkára kész egyik vezetőjétől.

A biokémia, mint modern tudomány, hazai művelői először -európai viszonylatban is elég korán - a már hosszú szervezeti élettel és tapasztalatokkal rendelkező Magyar Kémikusok Egyesülete keretében szervezkedtek: 1953-ban megalakult a Biokémiai Szakosztály Gerendás Mihály vezetésével. Antoni Ferenc kezdettől támogatója volt a magyar biokémikusok tudományos egyesületben való tömörítésének, s ott volt az MTA keretében később szervezett Magyar Biokémiai Társaság (MBT) alakulásánál is, résztvett szervezésében és első vezetésében. Az MBT megalakulása lehetővé tette a magyar biokémikusok csatlakozását a közben megalakult Európai Biokémiai Egyesületek Szövetségéhez és 1974-ben a 9. FEBS Kongresszus Budapesten történő szervezését.

Gerendás Mihály halála után Antoni Ferenc elvállalta az MKE Biokémiai Szakosztálya elnöki teendőinek ellátását, hiszen értékelte az ott folyó lelkes, szisztematikus társadalmi-tudományos életet. Irányításával a Szakosztály tevékenysége új színekkel gazdagodott.

Az 1970-es évek második felére igényként merült fel a magyar biokémikusok egységes szervezetének létrehozása. Kemény csatározások, félreértések és tárgyalások sora előzte meg az egyesülést, s ebben a támogatásával létrejött BÍOKÉMIA lap is jelentős szerepet játszott.

Bár az olykor viharos egyesülési tárgyalásokon Antoni Ferenc nem vett részt, az egység híve volt, személyes tekintélye is hozzájárult ahhoz, hogy az MBT-ből és az MKE Biokémiai Szakosztályából - kompromisszumok árán - 1981-ben létrejött a Magyar Biokémiai Egyesület (MBKE). Az egyesülés után

választott első vezetőségben alelnökként dolgozott, hosszú éveken át az Elnökség aktív tagja volt. Az Ő munkája is benne van Egyesületünk eredményeiben, a 20. FEBS sikerében is, bizonyítván egyben azt is, hogy ma már a két volt szervezet tagjai egységes szervezetben, alkotó módon együtt tudnak dolgozni.

Antoni professzor, mint világlátott, nagy tapasztalatokkal rendelkező, széles látókörű tudós, igyekezett mindig a legaktuálisabb feladatok orvos-biokémiai problémáival foglalkozni, illetve azok megoldására másokat is mozgósítani, amiben segítségére volt kiváló szervezőképessége, emberismerete. Ilyen irányú tevékenységének fontos mozzanata volt az az egyik legutóbbi javaslata is, melyben a Környezetvédelmi Biokémiai Szakosztály megalakítására tesz javaslatot, hiszen utolsó éveiben különösen kiemelten foglalkoztatták a környezetünk káros szennyeződésének problémái.

Rá emlékezvén, nem feledhetjük azokat az emlékezetes elnökségi-vezetőségi üléseket, amelyek során - olykor szípor-kázó humorral és derüvel -szórta közénk bölcs meglátásait, javaslatait, mindig ügyelve arra, hogy szókimondása lehetőleg pontos célt találjon.

Antoni professzor megbecsült tagja volt a nemzetközi biokémiai közösségnek is, világhírű képviselője a magyar tudóstársadalomnak.

Most amikor örök búcsút veszünk Tőle, tisztelettel és szeretettel gondolunk a Vele töltött mozgalmas, egyesületi évekre, a társadalmunkat is reformálni, jobbitani akaró törekvéseire, főhajtással köszönjük meg mindazt a nemest és jót, amit a magyar népért, s benne a magyar biokémikus társadalomért tett.

TYIHÁK ERNŐ

EGYESÜLETI ÉLET

A Magyar Biokémiai Egyesület Gyógyszerbiokémiai Szakosztálya a szokásos évi munkaértekezletét 1991. május 23-25. között tartotta Balatonszemesen, a Minisztertanács Üdülőjében.

A közel száz fő résztvevővel megtartott, szakmailag sikeres összejövetelen, a receptorok gyógyszerkutatásban betöltött egyre növekvő szerepével foglalkoztunk.

Az ülés alkalmából a szakosztály vezetősége megbeszélést tartott.

A megbeszélésen résztvettek; Dr.Kovács Gábor elnök,

Dr.Gaál József titkár,

Dr.Arányi Péter, Dr.Borsodi Anikó, Dr.Fekete

Márton, Dr.Kiss Béla vezetőségi tagok.

A megbeszélésen Dr.Kovács Gábor, aki 1984 óta irányítja a szakosztály munkáját, bejelentette lemondását, és kérte, hogy az új elnök megválasztásánál tekintsenek el személyétől.

A vezetőség megköszönte Dr.Kovács Gábor eddigi sikeres munkáját és az új vezetőség megválasztásáról, az alábbiakban határozott:

- 1.) Jelölő Bizottságot nevezett ki.
Elnök: Dr.Kovács Gábor (Gyógyszerkutató Intézet K.v.)
Tagok: Dr.Bagdy György (Országos Ideg -és Elmeógyógyászati Intézet)
Dr.Horváth Edit (Gyógyszerkutató Intézet K.v.)
- 2.) A Jelölő Bizottság javaslatot tesz a szakosztály vezetőség tagjaira.
- 3.) A Jelölő Bizottság javaslatát postán küldjük ki a szakosztály tagjainak, akik írásban szavaznak a lista elfogadásáról, illetve saját jelöltet állíthatnak (a legtöbb szavazatot kapott 1 fő).
- 4.) A megválasztott vezetőség a tisztségviselőket a saját köréből választja meg.

A NUKLEINSAV- és fehérjeszintézis szakosztály vezetősége is körlevéllel kereste meg egyesületünk tagjait. A körlevélhez csatolt kérdőívben választ vár :

- a szakosztályi tagságra,
- javaslatként - az elnökség tagjaira,
- javaslatként a szakosztály tevékenységére , továbbá észrevételeket a szakosztály működésével összefüggő minden más kérdésre.

A beérkezett válaszok feldolgozása után összehívott szakosztályülésem megválasztandó vezetőség a jövő év elején határoz majd a feladatokról.

Egyesületünk Intézöbizottságának javaslatára az Élelmiszer- és Agrárbiokémiai Szakosztály munkáját új alapokra kívánjuk helyezni. Tekintettel arra, hogy a Szakosztály elnevezésében is jelentkező kettős profil külön-külön is meglehetősen nagy területet fog át, felmerült az a gondolat, hogy a továbbiakban külön Élelmiszerbiokémiai illetve Agrárbiokémiai Szakosztály működjék. Ez az alapszabály értelmében elnökségi döntést kíván, amit szeretnénk megfelelően előkészíteni.

Elképzeléseink szerint a két szakosztály az alábbi fő profillal működne:

Agrárbiokémiai Szakosztály

1) a növénytermesztéssel kapcsolatos jelentős területek

- fotoszintézis biokémiája;
- a növényvédőszer hatásmechanismusa;
- a biológiai növényvédelem biokémiai alapjai;
- antinutritív faktorok a növényekben;
- növényi táplálkozás biokémiája;
- a növény és a rhizoszféra kölcsönhatásának biokémiai alapjai, a biológiai nitrogénfixálás;
- a növények genetikai manipulációjának biokémiai alapjai;

2) az állattenyésztéssel kapcsolatos jelentős területek

- az állati takarmányozás biokémiája;
- a takarmányhasznosítás befolyásolásának biokémiai alapjai;
- a szaporodásbiológia biokémiai alapjai;
- az embriótranszfer határfokát befolyásoló biokémiai faktorok;
- a takarmánytartósítás biokémiája;

3) a növénytermesztéssel és állattenyésztéssel kapcsolatos biokémiai analitika módszertani kérdései.

Élelmiszerbiokémiai Szakosztály

- növényi nyersanyagok tárolása, feldolgozása során végbemenő biokémiai folyamatok;
- állati eredetű nyersanyagok feldolgozása, érlelése során végbemenő biokémiai folyamatok;
- mikrobiológiai biokémia élelmiszeripari vonatkozásai;
- enzimes technológiák biokémiai alapjai, jövőbeni lehetőségek amilázok, proteázok, poligalakturonázok, cellulázok, lipázok technológiai alkalmazására;
- biokémiai analitikai módszerek az élelmiszer eredetvizsgálatban, minőségellenőrzésben;
- élelmiszerfehérjék hasznosulása, természetes gátló anyagok, bioaktív metabolitok.



Changes in Science Teaching at School Level

THE London and Northern Regional Sections of the Biochemical Society have held wide-ranging discussions of recent and projected changes in science teaching at school level, with a view to assessing the possible implications of these changes for biochemistry teaching at tertiary level. Papers summarizing these discussions have now been considered at recent meetings of both PEC and BASC and I was asked to provide a 'digest' of the two papers for publication in *The Biochemist*. By its very nature, this represents a personal view of the two discussion papers which were drawn up by Dr. Colin Wynn and myself, in our capacity as chairmen of the two Regional Sections, in which I have tried to incorporate some of the comments made by members of PEC and BASC.

GCSE and A-levels

During the last 10 years there has been a progressive change in the nature of the teaching of science in the later years of secondary education. Obvious external changes have been in the examination of the 16+ age group. The replacement of O-levels by GCSE (single subjects) in 1988 and the subsequent trend towards broad and balanced science were reforms largely prompted by the need to offer formal education in science to a larger number of pupils after age 14 than could be catered for by GCE O-levels, which catered for only the top 15–20% of the ability range.

This has led to a significant reduction in the content of school chemistry (and to a lesser extent, biology) courses, in order to make them accessible to a wider range of students. The content of A-level syllabuses was reduced by 15–20% in 1990 to accommodate the reduced content of GCSE compared to O-level.

The aim has been to allow students to develop a greater understanding of a more limited range of material and to make room for a broader education as is now envisaged through the teaching of balanced science within the National Curriculum (see below). In this context, more emphasis is given to the social, economic and industrial applications of science, with less emphasis on abstract theory.

Recent changes in the approach to the teaching of science in schools also have major implications for higher education: for example, the general move towards student-centred learning. The trend is

towards doing science through investigation, with more emphasis on interpretation of given material than on memorizing of factual information. Further, students now entering secondary and higher education will have had much less exposure to the traditional 'lecture' format, but should (hopefully) be better trained to find things out for themselves from various sources, including libraries.

The introduction of a broad balanced science course (variously described as co-ordinated science, combined science, etc.) is now effectively mandatory in state schools due to the time allocations of the National Curriculum.

The National Curriculum

The National Curriculum, introduced for first year pupils in 1989, will change the whole nature of education in maintained schools in England and Wales for children of compulsory school age (5–16). (Although the compulsory curriculum does not apply to the independent sector, many of these schools have already chosen to adopt similar patterns). The National Curriculum aims at giving a broad and balanced education for all, reducing early specialization and producing a sound foundation for life-long education whilst keeping career options open.

The philosophy of this curriculum is to change the method of assessment from the traditional pass-fail approach of the current public examinations to the monitoring of attainment levels. This new method of assessment allows an individual child to reach different levels of attainment in different subject areas dependent on their ability and interests, while seeking to ensure that minimal levels are attained throughout the full curriculum. A continuous attainment profile built up through the school career will provide a complete and comprehensive record of achievement.

Under the terms of the Education Reform Act 1988, all pupils following the National Curriculum have to study science from ages 5 to 16, science being one of the three foundation subjects designated as core subjects. The aim is to equip *all* pupils with an adequate grasp of science, as a basis for their future participation in our increasingly scientific and technologically-based society, as citizen or in their work. To this end, science is to be taught as a *broad balanced science* course (to age 16), aiming to give

understanding, as well as knowledge, and to develop the skills and processes needed for carrying out science.

One notable advantage of taking the balanced science scheme within the context of the National Curriculum is that early career decisions will no longer have to be made, this being a particular problem in the education of girls who, in many schools, gave up science as soon as possible, especially Chemistry and Physics (e.g. in the early 1990's 60% of girls took only one science subject, usually biology, while 1% took no science at all).

Within the balanced science scheme, chemistry, physics and biology will be taught as key components of a broader and more integrated course which will also include some coverage of cross-disciplinary areas such as earth sciences and biochemistry. This new science curriculum is designed to occupy about 20% of the total teaching time available for most children.

Science in the National Curriculum is currently based on 17 attainment targets, assessed on a 10 level scale, but testing at age of 16 will still be mainly by GCSE-type examination. This approach, leading to two GCSE awards, is referred to as the Dual Award Balanced Science scheme and would be the norm, leading to Advanced levels in any of the three sciences (biology, chemistry, physics). Extension papers would also be available within the Dual Award system for those of high ability.

However, single subject teaching at secondary level, leading to three GCSE awards, appears still to remain an option, subject to the proviso that all science subjects are taken to the age of 16. The problem here will be to produce three separated subjects from the programme of study based on 17 attainment targets, as many of these targets are inter-disciplinary in nature.

The National Curriculum will feed through to the GCSE stage in 1994 and the first cohort prepared throughout their secondary education by the National Curriculum will enter higher education in 1996. It is anticipated that the present GCSE examinations will require substantial modification to accommodate the National Curriculum syllabuses, with inevitable consequences for A- and AS-levels in 1996.

Preliminary indications suggest that the new A-levels now being prepared by working parties drawn from various examination boards for examination in 1996 will consist of a core course

The Biochemist

The Bulletin of The Biochemical Society Vol. 13, No. 3

(occupying up to 80% of the syllabus), together with a variety of specialist modules, e.g. biochemistry, food science, colour chemistry, polymer science, spectroscopy, soil chemistry, microbiology and biotechnology. The factual content of the core courses will inevitably be reduced by comparison with present courses to accommodate the reduced content of GCSE.

Implications for Higher Education

The implications for higher education of the changes outlined above are fairly obvious.

The factual knowledge and skills of students entering in 1996 will be very different. Thus we must expect our entrants to have a progressively smaller fund of prior knowledge but a better training in problem solving, experimental planning, data interpretation

and information retrieval. This implies a limitation on the amount of material that can be sensibly covered with our present three-year undergraduate courses and that four-year courses or '3+1' schemes (with their political and financial implications) are options worth considering. A particular problem noted concerns medicine, where chemistry is not taught at university level.

The reform of teaching in schools also affects the manner in which subjects are taught, with more emphasis on understanding and learning for oneself. This implies some adaptation in our approach to teaching (small group?) and assessing (more 'open book' type examination questions?) of undergraduate courses in biochemistry, with more emphasis on student-centred learning.

The response we should make to changes in the school curriculum is by no means clear. What is clear is that we must get involved as individuals, as a profession and as a Society. Perhaps the

changes taking place in schools should be viewed more positively as a window of opportunity to reform our undergraduate courses in biochemistry, taking note of how other scientists (e.g. physicists) are responding both to changes in schools and to the need to train a larger number of undergraduates in contexts that are relevant to industry as well as to academia.

One way forward is to set up a working party to consider our response. Such a group should undoubtedly benefit from including academic representatives from other disciplines interacting with biochemistry (e.g. chemistry, biology) as well as from industry and research institutes. ■

JOHN LAGNADO
*Department of Biochemistry,
Royal Holloway and Bedford New College,
University of London*

FEBS NEWS

FEBS Advanced Courses

1992

The Chairman of the Advanced Courses Committee is Prof. Horst Feldmann, Institut für Physiologische Chemie der Universität München, Goethestrasse 33, W-8000 München, Germany

Membrane traffic

Schladming, Austria; February 16-21, 1992

(applications by October, 1991)

Info: Dr B. Dobberstein, EMBL, Cell Biology Programme, Postfach 10 22 09, Meyerhofstrasse 1, W-6900 Heidelberg, Germany.

European school of medical genetics

Sestri Levante, Genova; April 5-11, 1992

(applications by January, 1992)

Info: Prof. Giovanni Romeo, Laboratory of Molecular Genetics, Gaslini Institute, L.go G., Gaslini, 5, I-16148 Genova-Quarto, Italy.

Chemistry of metals in biological systems

Louvain-la-Neuve, Belgium; May 17-29, 1992

(applications by March 31, 1992)

Info: Prof. R.R. Crichton, Unité de Biochimie, Université Catholique de Louvain, B-1348 Louvain-La-Neuve, Belgium.

Techniques in protein crystallography

Aarhus, Denmark, and Hamburg, Germany; June 8-18, 1992

(applications by March 1st, 1992)

Info: Dr Jens Nyborg, Department of Chemistry, Aarhus University, DK-8000 Aarhus C, Denmark.

Techniques in cell biology

Aarhus, Denmark; June 15-24, 1992

(applications by April 1, 1992)

Info: Prof. Julio E. Celis, Institute of Medical Biochemistry, Aarhus University, Ole Worms Allé, Building 170, DK-8000 Aarhus C, Denmark.

Post-transcriptional control of gene expression

Spetsai, Greece; August 3-14, 1992

(applications by April 30, 1992)

Info: Prof. Alexander V. Gabaln, Karolinska Institute, Box 60400, S-104 01 Stockholm, Sweden.

ANNUAL REPORT AND YEARBOOK

THE BIOCHEMICAL SOCIETY

1991



PROFESSIONAL AND EDUCATIONAL COMMITTEE REPORT

1990 marked the fifth year since the setting up of the Professional and Educational Committee (PEC) as a main Board of the Society. It was felt that this was an appropriate time to review the past activities and to plan for the future. In the light of this review, a special meeting of the PEC in February approved plans to concentrate, in the short term, on educational and careers activities, whilst seeking extra funding from the Society to permit the expansion of activities to a wider range of important project areas already identified, but which current resources could not support. The Society's Committee was sympathetic to these proposals and agreed to an increase in the PEC's budget to enable the administrative support for its activities to be reorganised into a Professional and Educational Department, staffed by a Professional and External Services Manager with the support of an Education Officer. Dianne Stilwell was appointed to the former post in December 1990 and the new Education Officer, Robert Donkers, was appointed in January 1991.

During the year the Biochemistry Across the School Curriculum (BASC) Group completed its series of guidance booklets for 'A' level biology by producing a fifth booklet covering the topic of immunology and by completely revising the first booklet in the series, "Essential Chemistry for Biochemistry". This Group also provided information on which the Society based its response to the School Examinations and Assessment Council's consultative paper on the draft principles for 'A' and 'A-S' level examinations.

Two Society schools' lectures were held in 1990. In April Professor A. Rees gave a schools' lecture as his first lecture in his new position as head of the Department of Biochemistry at the University of Bath. Professor Rees' lecture was entitled "The antibody molecule, an immunological Swiss army knife". The second lecture was given by Dr. George Dodd of the University of Warwick. Dr. Dodd's topic was the biochemistry of smell. Despite bad weather, his talk, "How do you smell?" was enthusiastically received by nearly 200 sixth-formers at Birmingham University in December.

One Schoolteacher Fellowship was awarded in 1990. Mrs. L. Starey from Godalming Sixth Form College used her Fellowship to fund a part-time M.Sc. course in Biochemistry at King's College London. The Society continued to sponsor the Life Science Awards in the Cooperative Society's young peoples' film and video festival. Once again, the films that won Society awards were from a wide range of age groups and abilities, with two coming from primary schools, one from a sixth form college and one from a school for children with severe learning difficulties. "Save the world" by Ysgol Maes Dyfan dealt with pollution, while Waterbeach Community School's entry told the story of the formation of fossils. These films were highly commended. "Treefax" - a magazine-style film about trees from Peak Forest Primary School and "European Nuclear Power, Friend or Foe", produced by Felpham Community College were both commended. All the films were shown as part of the festival at the National Film Theatre in London in October.

The Society is taking part in the "Talking Point in the Biological Sciences" scheme which is organised jointly by a group of learned societies and professional associations. The scheme aims to provide, with administrative backup, a comprehensive register of speakers willing to address school classes on topics of interest in the life sciences.

At higher education level the Society supports relevant student societies by providing a grant to help them hold a "Biochemical Society Lecture". Grants were awarded to 32 societies in 1990.

The UK Interest Group on Education in Biotechnology, which is one of the Interest Groups affiliated to the European Federation of Biotechnology, has had another extremely active and successful year. The Group won a £235,600 grant from the European Commission to set up the BEMET (Biotechnology in Europe Manpower Education and Training) project. BEMET will carry out a strategic appraisal of manpower and training needs for biotechnology throughout Europe, establish and disseminate an inventory of biotechnology-related European courses and support a wide range of activities being carried out by other organisations. The Interest Group also organised a Mason conference as part of the British Association for the Advancement of Science's annual meeting, held this year at University College, Swansea. The Mason conference dealt with the potential benefits to society of the new biotechnologies and was very well attended.

Four careers conferences were held in 1990, three in mainland UK, at Nottingham, London and Edinburgh, and one, for students from both the Irish Republic and Northern Ireland, in Belfast. This year the conferences were opened to pre-final year undergraduate students as well as final year undergraduates and postgraduates. This may have been a factor in the hugely increased student attendances at all the conferences. Industrial companies and other research institutions which employ biochemists were also well represented at the conferences. The academic departments that attended the conferences to publicise their postgraduate courses received a lot of interest from the students.

"Biochemistry, what is it?" is the title of the first in a series of three posters which together will form the basis of the Society's careers literature directed at 'A' level and pre-'A' level students. "Biochemistry, what is it?" was produced with the help of industrial sponsorship at the end of 1990, and, when the other posters in this series are prepared, will be sent to schools, colleges and careers services.

The annual graduate employment survey continued to show buoyant job prospects for biochemistry graduates. Last year's drop in the number of students applying to read for a Ph.D. was not sustained, according to the results of this year's survey.

European manpower needs in biotechnology, childrens' perceptions of science and scientists, the changing role of an academic head of department and an industrialist's view of the changes in higher education, were topics discussed at the 1990 meeting for heads of departments, held as part of the Society's summer meeting in Aberdeen. The speakers were Dr. David Bennett (British BioIndustry Association), Dr. Aubrey Tulley (Science Museum), Dr. David Boxer (University of Dundee) and Dr. Peter Knox (Glaxo Plc.). At the dinner following the meeting Professor Sir David Smith F.R.S., the Principal and Vice-Chancellor of the University of Edinburgh gave an after-dinner speech that was thought-provoking as well as extremely entertaining.

Debate continued throughout 1990 as to whether the Society should take upon itself responsibility for recognising qualifications. The PEC organised discussion meetings with representatives from other learned societies to seek their views. The opinions of other biochemical societies in Europe have also been sought. An article summarizing the exceedingly complex issues was written for *The Biochemist* in the hope of extending participation in the debate by all interested members before any decision is taken.

Professor Harold Baum, Chairman of PEC, continues to represent the Society on the Royal Society of Chemistry's Law and Parliamentary Committee. Topics of particular interest to the Society that were discussed and on which influential parliamentarians were advised included the impact of the White Paper on the NHS on teaching and research, especially in clinical biochemistry; science funding; policy for higher education; and the supply of science teachers for schools.

Regional Section activities increased in 1990, reflecting their new constitution and broadened membership. Predoctoral students' meetings were held in Bath (Wales and West Section), Manchester (Northern Section) and Strathclyde (Scottish Section). The Northern Section again awarded bursaries to enable four students to attend the British Association's annual meeting. Northern Section also organised a special meeting to consider the effects of the changing school science curriculum on higher education admissions and teaching practice. London Section members produced a discussion document on the same topic and this Section also set up a working party to consider the possible effects on biochemistry of the erosion of the binary divide between the universities and the polytechnic and college sector.

Following the decision taken earlier in the year to concentrate resources on educational and careers-related areas of activity, media relations were not pursued as actively as in previous years. However, there was a great deal of media interest in the colloquium on novel methods of drug delivery held at the Bath meeting in April. The UK Interest Group's Mason conference at the British Association meeting dominated the media coverage of the meeting the following day.

The Society once again funded one of the COPUS (Committee on the Public Understanding of Science) Media Fellowships. This year's Fellowship enabled Dr. Keith Hart of the Molecular Recognition Centre at Bristol University to spend time working for the science section of the BBC World Service.

Professor Luc Montagnier, from the Institut Pasteur in Paris, gave the Society's first public lecture as part of the meeting at Trinity College, Dublin. Professor Montagnier spoke on the subject of Aids pathogenesis to a packed audience which included the French and British Ambassadors and members of both houses of the Irish Parliament.

H. Baum CHAIRMAN, PROFESSIONAL &
EDUCATIONAL COMMITTEE

New developments in lipid-protein interactions and receptor function

Spetsai, Greece; August 16-27, 1992

Info: Prof. Dr K.W.A. Wirtz, Center for Biomembranes and Lipid Enzymology, State University of Utrecht, P.O. Box 80.054, NL-3508 TB Utrecht, The Netherlands.

Mechanisms in eukaryotic gene regulation

Spetsai, Greece; August 31-September 10, 1992

(applications by April 1992)

Info: Prof. Dr Horst Feldmann, Institut für Physiologische Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität, Schillerstr. 44, W-8000 München 2, Germany.

Application of in vivo NMR techniques to probe metabolism in yeasts and other organisms

Oeiras, Portugal; August 31-September 11, 1992

(applications by May 31, 1992)

Info: Dr H. Santos, Centro de Tecnologia Quimica e Biologica, Rua de Quinta Grande 6, Apartado 127, P-2780 Oeiras, Portugal.

Structure and function of glycoconjugates

Villeneuve d'Ascq, France; September 6-19, 1992

(applications by April 15, 1992)

Info: Prof. André Verbert, Université des Sciences et Techniques de Lille Flandres-Artois, Laboratoire de Chimie Biologique et UMR no. 111 du CNRS, F-59655 Villeneuve d'Ascq Cedex, France.

HÍREK ÉS ESEMÉNYEK

Megalakult a WORLDWIDE HUNGARIAN MEDICAL ACADEMY, Inc.

1990. december 28-án jegyezték be Bostonban (Massachusetts).

Az elnökség tagjai:

Balogh Károly, Koncz Lajos, Nagy Lajos, Szent-Györgyi G. András, Szabó Sándor (elnök).

Az első US-Canada symposium idején (Sarasota, Florida, 1991. okt. 26-27) jelenik meg a címtár, amely tartalmazza a résztvevő országokat és képviselőiteket, a tagok nevét ABC sorrendben és a WHMA működésére vonatkozó egyéb adatokat. A WHMA-nak saját publikációja is megjelenik majd, addig a tagok az Acta Biomedica Hungarica Americana-t, a Hungarian Medical Association of America (HMAA) kiadványát kapják kézhez.

A sarasotai symposium a beérkezett javaslatok alapján két alapkutatói és két klinikai témát tekint át:

- Izomkontrakció szabályozása (elnöke Szent-Györgyi A.)
- Neuroscience (Palkovits M.)
- Kardiológia (Sárosi G.)
- Gastroenterologia (Nagy L.).

A WHMA támogatja helyi symposiók rendezését is.

A symposiummal és WHMA-val kapcsolatos információk, útmutatások és tagságfelvételi kérelemhez nyomtatványok az elnökségtől szerezhetők be (WHMA c/o. S. Szabo, Brigham and Women's Hospital, 75 Francis St., Boston, MA 02115, USA; Fax: 00-1-617-732-4434).

Az első biannuális nemzetközi kongresszust eredetileg Bostonban kívánták megrendezni, de az európai és főleg a hazai tagság jelenlétének biztosítása érdekében az I. Nemzetközi WHMA Kongresszust Balatonaligán tartják 1992. május 26-30. között. Részvételi szándékot a hazai szervező bizottság elnökének lehet bejelenteni:

Prof. Mozsik Gyula, POTE, I. Belklinika, 7643 Pécs, Ifjúság u. 13.
Tel.: 06-72-24-122, Fax: 06-72-33-870.

Az előzetes program szerint a kongresszus 5 fő symposiumra tagozódik:

- Alapkutató
- Klinikai gyógyászat

- Modern egészségügyi szervezés és irányítás ("management") alapelvei helyi és állami szinten
- Az orvosképzés új irányvonala
- Ipari- egyetemi kooperáció az oktatásban, kutatásban és gyógyszer-fejlesztésben.

A tervek szerint a meghívott előadók, a témák kiváló magyar és nem magyar nemzetközi szakértői adnak áttekintést, majd őket követik rövid, válogatott előadások. A szelekció a beküldött abstractokból történik.


A kongresszushoz kapcsolódó egyik Satellite Meeting témája: "DNS struktúrális szerveződése és kromoszóma kondenzálódás", helye: Vácrátót, Botanikus Kert, időpontja: 1992. május 25-26. Szervezője: Bánfalvi Gáspár, SOTE I. sz. Kémiai-Biokémiai Intézet, 1088 Budapest 8. Puskin u. 9. Tel.: 1-382-755/61. Fax: 118-7480.

Bejegyzését követően a magyarországi WHMA alapítvány lehetővé teszi majd a tagdíjak befizetését forintban. Hasonló alapítványokat terveznek Cseh-szlovákiában, Romániában és Jugoszláviában, hogy a tagok helyi pénznemben fizethessék a tagdíjat. A befizetett tagdíj a helyi WHMA szervezetnél marad. Amennyiben az ideai tagdíjbefizetés nehézségbe ütközne, az későbbi időpontban is befizethető.

Egyéni tagdíj világszerte: 40 USD, családoknak 60 USD, kivéve Magyarországot és a környező országokat, ahol a tagdíj személyenként 20 USD, családoknak 30 USD. Magyarországi tagok a tagdíjnak megfelelő forint összeget Dr. Mózsik Gyulának, vagy Dr. Simon Lászlónak is befizethetik. A dollárban történő befizetéseket átutalják Bostonba.

Szállásköltségek gondjainak enyhítésére hozták létre a vendég-csere programot. A tagok egy nyomtatványon jelezhetik, hogy hány vendég befogadására vállalkoznak. A társaság információs szolgálata kiterjed az ösztöndíjak közvetítésére is. Ugyancsak nyomtatványok szolgálnak annak megjelölésére, hogy ki kínál ösztöndíjat, illetve ki keres ilyen lehetőséget. Az első ilyen ösztöndíj program a WHMA-Maricopa Medical Fellowship, alapítója George Sárosi, a Maricopa Medical Center igazgatója. Ez az ösztöndíj egyelőre csak a helyi tartózkodás költségeit fedezi a belgyógyászati osztályon és külön fizetést nem folyósítanak.

Budapest, 1991. október 4.


Bánfalvi Gáspár

HRVATSKO BIOKEMIJSKO DRUŠTVO
CROATIAN BIOCHEMICAL SOCIETY

Marulićev trg 19

41000 Zagreb

Croatia, Yugoslavia

3 October, 1991

Magyar Biokémikál Egyesület
Dr. Egon J. Hidvégi, National
Research Institute for Radiobiology
and Radiohygiene,
P.O. Box 101, H-1775 Budapest,
Hungary

Fax: 99-36-1-2-266-974

Dear Dr. Hidvégi and dear members of the Biochemical Society,

On behalf of 200 members of the Croatian Biochemical Society I would like to draw your attention to the tragic and cruel war imposed on Croatia - the only war in Europe after 1945 - which is devastating our country, our people, villages and towns, economy, monuments of our 1300 years old culture, our churches, our souls and our everyday lifes, including all our activities as scientists and scholars. Outside the country this war is too often considered just an ethnic war. Sometimes it is not understood that Croatia, which succeeded to retain its autonomy for ten centuries, from the time of our first king in 925 to the creation of Yugoslavia in 1918, is now defending its freedom against the extremely conservative communist generals of Yugoslav army, governed by the Republic of Serbia which can not accept the loss of dominance over the whole territory of Yugoslavia. They had privilege to enjoy it since 1918. Austro-Hungarian empire lost the First World War, and Croatia, one of its lands, was added to Serbian Kingdom. Germany lost the Second World War, and Croatia was again given to Yugoslavia, dominated by Serbs. When Croatia wanted to join the West appreciating their moral, economic, cultural and democratic values, it has become the victim of Serbian aggression. Now they are using Serbian minority in Croatia as an excuse for intervention, after having artificially created problems and proclaimed their suppression.

The first Serbs came to Croatia as refugees during Turkish invasion of the Balkans. They used to live here in peace until the beginning of the twentieth century. Now they make 12% of population of Croatia (80% are Croats, and there are other minorities). They have never been suppressed. On the contrary, at the time of the first free elections in Croatia (spring 1990), 50% of all schoolmasters in Croatia and 60% of all policemen were

Serbs. In districts with prevailing Serbian population they entirely controlled the local government, while in the others their participation was unproportionally high. Today, in 1991, there are Serbs in Croatian government, this year's winner of the Croatian Science Award was a Serb, etc. There is definitely no discrimination against Serbs.

In 1990 about 15 Serbs were elected to Croatian Parliament (Sabor), mostly on communist lists. Traditionally, the seat of the Deputy Chairman of the Parliament was offered to a Serb. Instead of parliamentary democracy a boycott was chosen, then, in mid-August 1990, barricades grew up on highways passing Serbian villages, and finally the attacks on our police stations, trains and busses led to a local war. However, there were no serious casualties before the intervention of the Yugoslav army. Regretfully, thousands of dead and wounded people have been counted by today, most of them civilians.

Until last year Croatia was contributing 33% and Slovenia 20% of the Yugoslav army budget, though representing together only 25% of total population of Yugoslavia. After 1945, this army has fought only two wars, both in 1991: the one against Slovenia, and now the one against Croatia. The third war, this time against Bosnia and Hercegovina (and possibly against the peace of the whole continent), may start next. The purpose of the present war is to destroy whatever is Croatian in Croatia. We, Croats, have no other choice but to defend our lives, our homes and the towns and villages inhabited by our ancestors for thirteen centuries. You are certainly aware that just today the surroundings of Dubrovnik, the cradle of Croatian culture and our most beautiful city, are being attacked and burned. The city which hosted the FEBS community for the 1979 Special Meeting on Enzymes has been deprived of electricity, water and all communications with the rest of the world. Ironically, the city flag has the inscription *LIBERTAS*.

We, the members of Croatian Biochemical Society, are writing to all our colleagues and friends asking for help. We urge you to use all your professional, governmental, political and other influence to support Croatian case, i.e. to support the right of Croatian people to live peacefully in their own independent and democratic country as members of European Community. There is no more biochemistry in Croatia. We need freedom and peace. We trust that all our colleagues understand these basic human needs which we are deprived of.

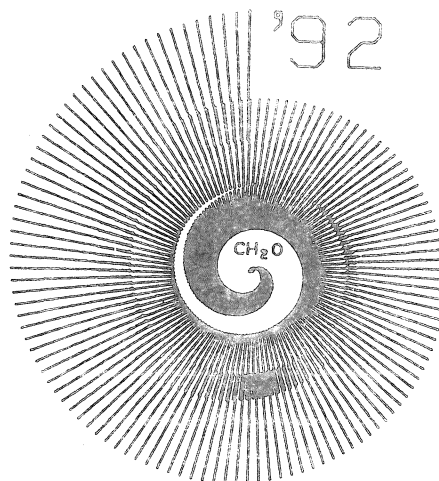
We thank you in advance for your support.



Professor Željko Kučan
President
Croatian Biochemical Society
Dean, Faculty of Science
University of Zagreb

**3rd International Conference
on ROLE OF FORMALDEHYDE
IN BIOLOGICAL SYSTEMS**
Methylation and Demethylation
Processes

**May 17-22, 1992
Sopron, Hungary**



INVITATION

On behalf of the Hungarian Biochemical Society I wish to extend a cordial invitation for you to attend and participate in the 3rd International Conference on ROLE OF FORMALDEHYDE IN BIOLOGICAL SYSTEMS - Methylation and Demethylation Processes to be held May 17-22, 1992 in Sopron, Hungary.

The scientific programme has been arranged to cover the most up-to-date themes of formaldehyde research and provide the opportunity for scientists to hear and discuss new results obtained and problems emerged in this very interesting and important field of biological and chemical sciences.

Come and join the scientific front line for a better understanding of the pathways and functions of formaldehyde in biological systems and help in developing new ideas.

Emő Nish

SCIENTIFIC COMMITTEE

- | | |
|----------------------|------------------------|
| M. Greenblatt (USA) | L. Trézi (Hungary) |
| S. Kim (USA) | E. Tylhák (Hungary) |
| W. K. Paik (USA) | B. F. Vanyushin (USSR) |
| I. Rusznák (Hungary) | L. Welner (Israel) |
| B. Szende (Hungary) | J. Wendlick (USA) |

ORGANIZING COMMITTEE

- | | |
|---------------------|-------------|
| E. Tylhák, Chairman | É. Sárdi |
| M. Bagl-Göbel | T. Szarvas |
| I. Farkas | M. Szilágyi |
| E. Mincsovics | L. Trézi |

TOPICS

- 1 Occurrence and analysis of formaldehyde in biological systems
- 2 Formaldehyde and C₁ pool
- 3 Formaldehyde cycle as endogenous biochemical pathway
- 4 L-methionine and SAM as formaldehyde generators
- 5 Role of formaldehyde in the enzymatic methylation of nucleic acids, proteins etc.
- 6 Formation of formaldehyde in demethylation reactions
- 7 Factors influencing the formaldehyde cycle - effects of heat shock, watersupply, chemicals, radiations, microbial infections (biotic and abiotic stresses)
- 8 Formaldehyde cycle and the cell proliferation
- 9 Toxicology of formaldehyde
- 10 Formaldehyde and the carcinogenesis
- 11 Role of formaldehyde in the formation of singlet oxygen and excited formaldehyde
- 12 Formaldehyde and disease resistance
- 13 Formaldehyde and biological effects of pharmaceuticals and pesticides
- 14 Exogenous and endogenous acceptors and eliminators of formaldehyde
- 15 Nonenzymatic methylation, formylation and hydroxymethylation of nucleic acids, proteins and low molecular substances by formaldehyde
- 16 Quantumbiochemical aspects of the formaldehyde reactions

EXHIBITION

There will be an exhibition of equipment, accessories, chemicals and books in conjunction with the Conference

LANGUAGE

English will be the official language of the Conference

Olvasóink érdeklődésére ezúton is közöljük, hogy Hidvégi Egonnak lapunk előző számában közölt tanulmánya eredetileg a HITEL-ben jelent meg. A BIOKÉMIA-ban való közzléséhez a felelős szerkesztő kérésére járult hozzá.

Hidvégi Egon

Gondolatok a hazai

34 HITEL • 1991. 16. szám

kutatóhálózat átalakításáról

KÖRNYEZETVÉDELEM

Az utóbbi évtizedekben az ipar és a mezőgazdaság ugrásszerű fejlődésének következtében a bioszféra sok vonatkozásban észlelhetően károsodott. A káros folyamatokat és azok hatását az élő szervezetekre legelőbb a hagyományos biológiai szakterületek képviselői, a zoológusok, botanikusok, ökológusok vizsgálták. A hatvanas években az iparilag fejlett országok vegyészei, toxikológusai és biokémikusai is bekapcsolódtak alap- és fejlesztő kutatásokkal a környezetkárosító hatások vizsgálatába. E tudományágak képviselői új, modern kísérleti módszereket vezettek be s munkásságuk eredményeként a hetvenes évek elejétől új ágazatként jelent meg az USA-ban, Kanadában, a skandináv államokban és iparilag fejlett, más országokban is a környezetvédelmi biokémia. E tudományág alapkutatóként a környezeti károsító hatásokat vizsgálja enzim- és molekulaszervezet szintjén. Alkalmazott kutatásokban viszont azoknak a biokémiai kutatásoknak a mérését használja fel, amelyek az alapkutatások szerint különösen, vagy egyes esetekben specifikusan reagálnak az adott környezetszennyező anyagra (biomonitoring).

A Magyar Biokémiai Egyesületnek is számos olyan tagja van, akinek tevékenysége szorosan kapcsolódik a környezetvédelmi biokémia tárgyköréhez.

A József Attila Tudományegyetem Biokémiai Tanszéke több mint tíz éve folytat kutatómunkát a környezetvédelmi biokémia területén. Tanácsadót ad az IUBS keretében működő nemzetközi - Biomonitoring Munkabizottságnak, valamint az ennek megfelelő hazai szervezetnek. Hazai biokémikusok is tartottak bemutatót az 1985-ben rendezett 'UNESCO-ICRO-IUBS Bioindicators training course' tanfolyamon. A tavalyi budapesti FEBS-találkozón szatellita szimpoziumot szerveztünk - ENVIRONMENTAL BIOCHEMISTRY címmel s ezen a hazai résztvevőkön kívül amerikai, izraeli és finn kollégák is részt vettek.

Hazai környezet-biokémikusok kutatási eredményei mutattak rá olyan környezetkárosító folyamatokra, amelyeket a környezetvédelemmel foglalkozó hagyományos kutatási területek módszerei nem jelezhetnek. Az ez évi balatoni angolna-pusztulás okaira is nagy mértékben hazai környezetbiokémikusok mérései alapján derült fény. Mindezek alapján szükségesnek látszik, hogy az eredményesebb hazai környezetbiokémiai kutatások előmozdítása céljából:

alakítsuk meg a Környezetbiokémiai Szakosztályt!

NEMCSÓK JÁNOS

Útban '92 felé

Ha az ember nemcsak egyik napról a másikra él, hanem gondolatok, elképzelései, tervei vannak mind a maga mind szűkebb-tágabb társadalmi környezetére jövőjéről, akkor év végén legalább néhány percet visszapillant a letűnt időre is, hogy azután új célokra tekintsen. A visszapillantásokat számomra már jó fél évszázada megkönnyítik az előttünk járt évszázadok és évezredek gondolkodói. Könyvtáram rendezésekor most egy vékonyka kötet került a kezembe. Ebből idézek. (KUNGFUTSE - LUN YÜ . Kung mester beszélgetései. Bibliotheca, Budapest, 1943. Fordította és bevezetéssel ellátta Hamvas Béla).

TUDÁS Dsi Hia így szólt: - Aki minden nap tudja, hogy mi az, ami még hiányzik belőle, aki minden hónapban tudja, hogy mi az, amit tud, az komolyan tanul.

AZ EGYETLEN MONDAT

A Mester így szólt: - Úgy-e, Shen, tanításaim nem több, mint egyetlen mondat? Dsong mester válaszolt: - Egyetlen mondat. Amikor a Mester kiment, a tanítványok azt kérdezték: - Melyik az a mondat? Dsong mester így szólt: - Légy hű önmagához és légy jó másához. Ez a Mester tanítása. S ebben minden benne van.

A KORMÁNYZÁS LÉNYEGE

Dsi Li azt kérdezte: - Mi a kormányzás lényege? A Mester így szólt: - Elöl menni és bátorítani. Amikor bővebb felvilágosítást kért, a Mester azt mondta: - Nem elfáradni. Ai herceg azt kérdezte: Mit jelent kormányozni? A Mester így szólt: - A dolgokat a helyükre tenni.

A NÉP HITE

Dsi Gong azt kérdezte, hogyan kell helyesen kormányozni. A Mester így szólt: - Gondoskodni, hogy elég táplálék, elég nagy hadsereg és a népben elég hit legyen. Dsi Gong így szólt: - Ha az ember kényszerből az egyiket fel kell adja, a három közül melyiket nélkülözné inkább? A Mester így szólt: - A hadsereget. Ha az embernek kényszerből még egyet fel kell adnia, a megmaradt kettő közül melyiket nélkülözné inkább? A Mester így szólt: - A táplálékot. Örök időktől fogva úgymint mindenkinek meg kell halnia. Ha azonban a népből a hit hiányzik, minden kormányzás lehetetlen.

+

Kedves Olvasó! Ha eddig eljutottál az olvasásban, befejezésül hadd idézzem SZENT-GYÖRGYI ALBERT hitét. Nem azt, amely az ateista hiten lévőket megdöbbenetheti, hanem azt, amit nemrég elhunyt, emberi kiválóságával is emlékezetes kollégánk, BIRÓ ENDRE professzor így fogalmazott meg: „Hogyan ültette el bennünk munkánk fontosságának érzését? Azzal, hogy maradtak talán hittáborban, amit csinált. Olyan természetesen, ahogyan levegőt vesz az ember - hitt a tények fontosságának sorrendjében.” (BIOKÉMIA 1983. szeptember.)

- Kellemes karácsonyi ünnepeket és sikerekben gazdag, békés, boldog új esztendőt kíván lapunk minden olvasójának egyesületünk vezetősége, titkársága és a szerkesztő bizottság.

(bd)