

BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület
tájékoztatója

Quarterly Review of the
Hungarian Biochemical Society

Szerkesztő bizottság : Alkonyi István, Bagdy Dániel, Bánfalvi
Gáspár, Elődi Pál, Falus András, Fésüs
László, Gergely Pál, Hudecz Ferenc,
Nyeste László és Sarkadi Balázs

Felelős szerkesztő : Bagdy Dániel
Technikai szerkesztő : Bölöni Erzsébet

A tartalomból : Cytokine receptor architecture and molecular
biology of signal transduction in cytokine
action

G proteinek

Localisation of functionally relevant domains
in proteins

Beszámolók nemzetközi tudományos találkozókról

FEBS 34. Council Meeting - Helsinki, 1994 (a FEBS
Special Meeting : Biomembranes (jún.26-júl 1 alatt)

4th Int.Conf.on Transglutaminases and Protein
Crosslinking Reactions - Debrecen,1994.aug.28-31.

16th Int Congr.of Biochemistry and Molecular Bio-
logy - New Delhi, India 1994.szept.19-22.

9th Int.Symposium on Capillary Electrophoresis -
Budapest,1994.okt.5-7.

Horvát biokémikusok 2.találkozója - Opatija,
1994.okt.14-15.

Hírek és események

Tudomány és politika

CHEMEXPO '95 március 28-31

Biochemical Education

Contents

Cytokine receptor architecture and molecular biology
of signal transduction in cytokine action

G proteins

Localisation of functionally relevant domains in proteins

Reports on international scientific meetings

News and events

E számunk szerzői : Dombrádi Viktor, Falus András, Fábián Gabriella,
Fésüs László, Friedrich Péter, Hudecz Ferenc, Kilár Ferenc,
Lóránd László, Szűcs Mária és Venetianer Pál.

Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület, 1372 Budapest, Pf. 451

Felelős kiadó : dr. Guba Ferenc

Készült a Semmelweis Orvostudományi Egyetem Házinyomdájában -
1089 Budapest, Diószeghy Sámuel u 21.

Az engedély száma : III/SZI/397/1977 HU ISSN 01338455

CYTOKINE RECEPTOR ARCHITECTURE AND
MOLECULAR BIOLOGY OF SIGNAL TRANSDUCTION
IN CYTOKINE ACTION

András Falus

Department of Biology, Semmelweis Medical University, Budapest
1089 Budapest Nagyvárad tér 4

Structural architecture of cytokine receptor assemblies with so called 'private' and 'public' units and the major signal transduction pathways through gp130 shared among the receptors for interleukin 6 and other IL-6 type cytokines are summarized in this review with a special attention to the molecular mechanism on the role of JAK kinase family and Stat proteins.

Basic structural principles in cytokine receptor assembly)
a model for four-component interaction

Cytokines are soluble intercrine mediators exhibiting a wide variety of cellular activities including the regulation of the biosynthesis of various proteins and proliferative effects (1-3). They affect the operation or activation pattern of the cellular targets via binding to specific cytokine receptors. These membrane proteins form mostly complex membrane protein assemblies with multiple units. Many cytokine receptors consist of two kinds of membrane proteins, one with specific binding properties and one (or more) without the ability to bind the ligand, but tightly associated with signal generation and transduction. One of the recently recognised principles is that these 'public' receptor elements are shared among the 'specific' (or 'private') cytokine receptors (4-6). Up to now there are three major families for common unit, involved in multiple cytokine receptor complexes (Table 1)

The stoichiometry of these cytokine receptor structures are different, e.g. two gp130 has to homodimerise when it is associated with IL-6 receptor, while in the other four cytokines of the same family the ration between the private and public unit is 1:1 (7). There are two major consequences for the involvement of the common chains. First, the association with the common unit provides markedly (up to 5-10 times) increased number of high affinity cytokine binding sites on the surface of responding cell (4,7). Considering the relatively low number of cytokine receptors per cell, this change basically modify (enhance) the sensitivity of the cell for the cytokine.

Secondly, since many specific cytokine receptors occur in soluble form in various body fluids, the availability of the common

List of abbreviations CNTF ciliary neurotropic factor, CSF colony stimulating factor, EGF epidermal growth factor, G-CSF granulocyte-CSF, GM-CSF granulocyte-makrophage-CSF, Epo erythropoietin, IFN interferon, IL interleukin, LIF leukemia inhibiting faktor, MAP mitogen activated protein, NF-IL-6 nuclear factor-interleukin-6, STAT signal transducers and activation and transcription

Table 1.

Common membrane components in cytokine receptors

Common chain	Attached to specific receptor for
gp130	IL-6, LIF, OM, CNTF, IL-11
KH97	IL-3, IL-5, GM-CSF
IL-2R γ	IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15

IL: interleukin, LIF: leukemia inhibitory factor, OM: oncostatin M, GM-CSF:
granulocyte-monocyte colony stimulating factor

chain on a cell without expressing private cytokine receptor makes this cell capable to react with a cytokine if the sufficient amount of previously formed complexes of soluble cytokine receptor bound to the cytokine is present. Regardless, whether the soluble form of cytokine receptor was generated by surface enzymatic cleavage or alternative splicing, this scheme generates an alternative and novel way for cytokine diversity. This mechanism is published for a series of cytokines including IL-6 and CNTF and might have a basic role in enlargement of the scale of targets in cytokine action (8-9).

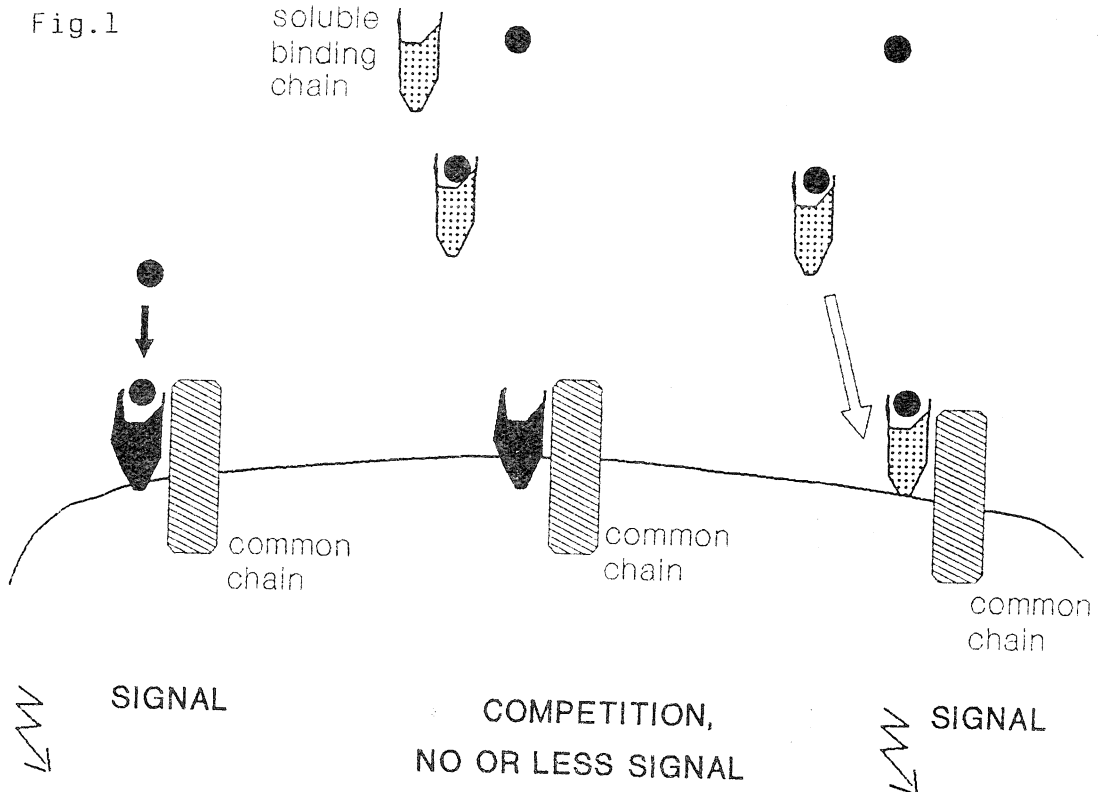
More generally, there are at least three possibilities in this situation with significant functional consequences.

A - in the case if the soluble cytokine receptor competes with the membrane-bound counterpart by preventing the cytokine moiety to reach the cellular receptor in sufficient concentration, the presence of soluble receptor impairs the cytokine effect or oppositely

B - as outlined above, the soluble cytokine receptor-cytokine complex might react with membrane bound common chain even in the absence of cell-bound specific cytokine receptor, followed by a normal signal transduction in the cell with all functional consequences characteristic to the appropriate cytokine (Fig.1).

C - one cytokine, IL-12 was found to function only in this complexed form (10). This molecule is a disulphide heterodimer of two subunits, one resembling (based on sequence and secondary structure predictions) to a cytokine and the other similar to soluble IL-6 receptor (Fig.2). In this case the 'cytokine-like' subunit (p35) alone is not detected yet.

By this way, a four-component assembly, including cytokine, soluble and/or membrane bound specific cytokine receptor and membrane associated common unit seems to be obvious.



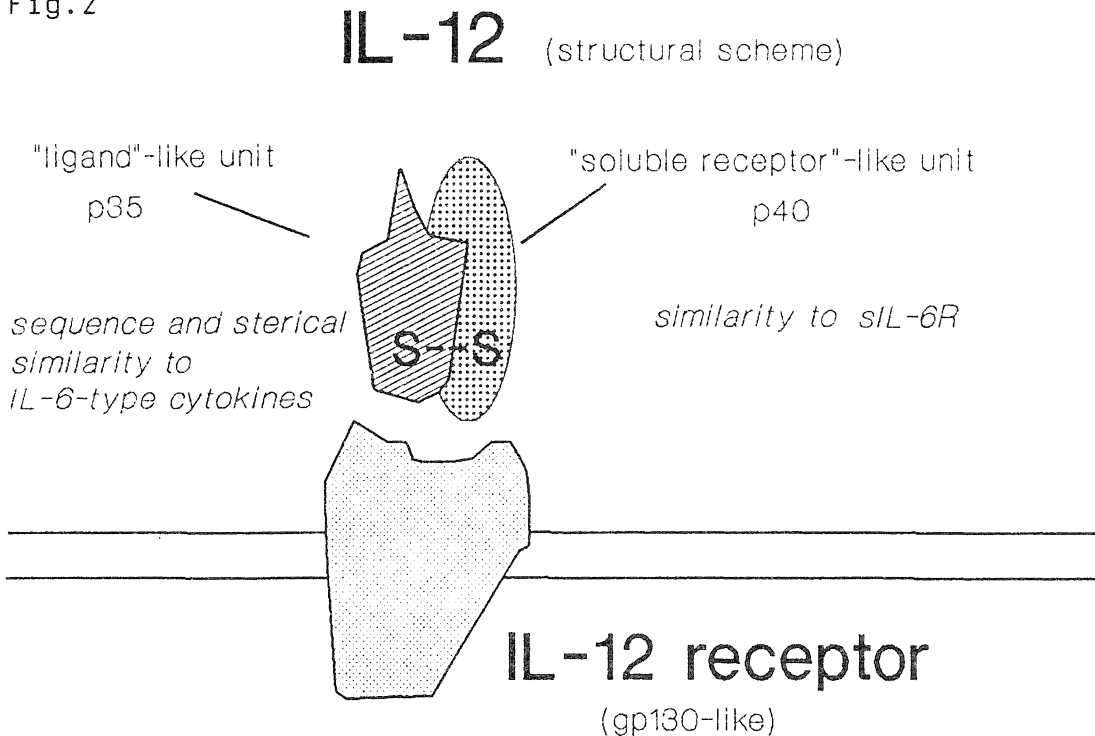
Binding chain of cytokine receptor complexes may occur in soluble form. The soluble receptor can either bind cytokine and compete with the membrane bound counterpart (resulting in no or less signal) or alternatively can bind to the membrane-associated common chain (resulting in cytokine signal even if originally the cell did not express the specific receptor for the cytokine). This possibility generates a novel form of cytokine diversity.

Table 2.

Cytokine specific pattern of JAK tyrosine phosphorylation

CYTOKINE	JAK-TYPE
Erythropoietin	JAK2
Growth hormone	JAK2
Interleukin-3	JAK2
Interferon (IFN) α and β	JAK1, TYK2
IFN γ	JAK1, JAK2

Fig.2



Natural form of interleukin-12 is a disulphid heterodimer of a 40 Kda 'receptor-like' and a 35 Kda 'cytokine-like unit

Signal pathways in cytokine action includes activation of JAK proteins and Stat proteins

Many cytokines (such as IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, G-CSF, GM-CSF, LIF, EPO) induce a rapid and transient phosphorylation of JAK-type kinases and a set of transcriptional factors (11-13). Our present understanding of signal transduction in numerous cytokine actions involves at least two separate but connected series of events.

First, activation of JAK kinases, involved in the intracellular activation following the cytokine binding. The kinase family, involved in cytokine signal transduction seems to be extremely heterogeneous (14). Presently our knowledge comes mostly from IFN (α , β and γ) and IL-6 studies. In the review the signal transduction after IL-2 (consisting of p56^{lck} and of c.fos and c-jun activation) is not discussed.

Presently, a set of JAK and TYK kinases are characterised. There are a definite cytokine specific (Table 2) pattern of JAK proteins. Moreover, one cytokine (IL-6) activates different set of JAKs depending on the cell-type affected IL-6 (Table 3). These results provide partial explanation for molecular background of cellular specificity in cytokine action. One can speculate that many kinases involved in the signal transduction are to be described yet.

Table 3.

Cell specific pattern of JAK tyrosine phosphorylation by interleukin-6

CELL	JAK-TYPE
IgE myeloma (U266)	JAK2, TYK2
SK-MES	JAK2
BAF/BO3 (pre-B-line)	JAK1, JAK2
Y6 (murine hematopoietic leukemia line)	JAK2

Second, the Stat (signal transducers and activators of transcription) proteins. The family of Stat proteins bind to characteristic motifs of DNA (15) for instance the hepatic Stat3 factor (human acute phase response factor) recognising a TTCCCGTAA sequence in

Table 4

Stat protein pattern activated by different cytokines

CYTOKINE	STAT PROTEIN
Interferon (IFN) α , β	Stat 2 (p113)
	Stat 1 α/β (p91, p84)
	p48 (nuclear)
IFN γ	Stat 1 (p91-Tyr-P) (nuclear translocation)
CNTF	mostly Stat1
EGF	Stat3 (plus other non-p91)
interleukin-6	Stat3 (plus other non p91)

CNTF: ciliary neurotrophic factor, EGF: epidermal growth factor

the 5'flanking region of genes encoding for human acut phase proteins, such as $\alpha 2$ macroglobulin and haptoglobin. This action is independent from an other transcriptional factor system CREB/ATF (NF-IL6) which recognise an adjacent, but separate motif (16).

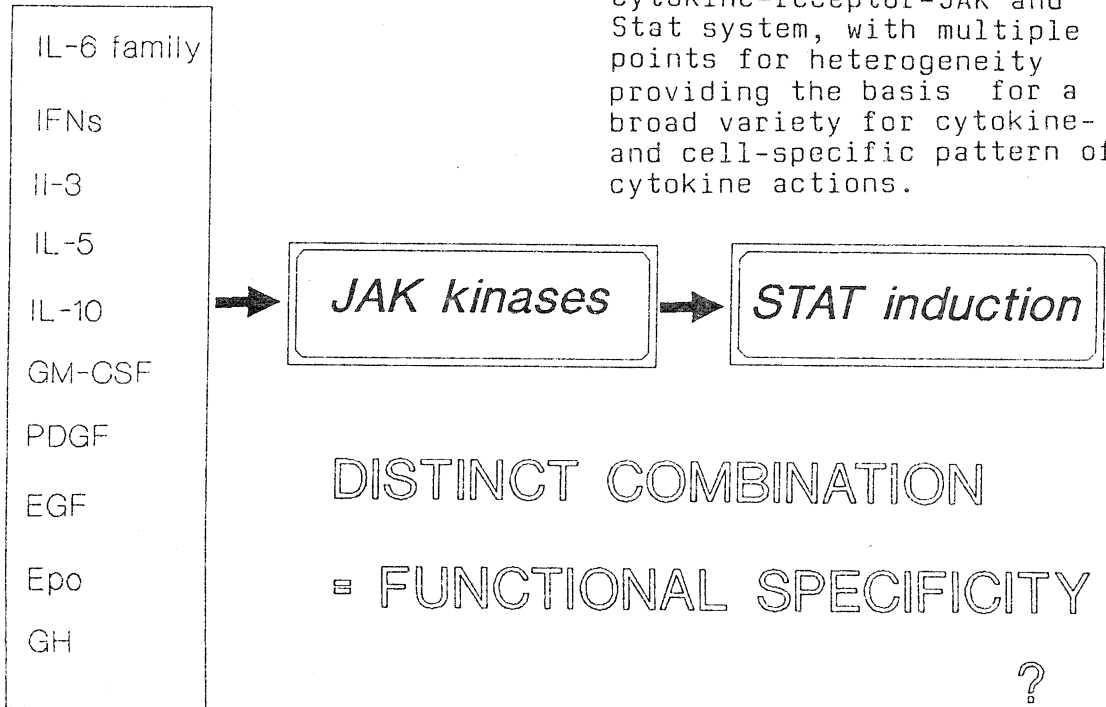
Similarly to JAK family, the Stat transcription factors are also combined in cytokine specific pattern (Table 4). In the molecular mechanism of the generation of active Stat proteins, two pathways are characterised so far, one ras-dependent (with a strict order of ras, raf and MAP-kinase activation) and an other one, which is ras-independent (H7-sensitive). Basically, the ras-independent pathway is likely connected with the transcriptional regulation of Stat proteins, while the ras-dependent pathway is probably involved in activation (phosphorylation) of the Stat proteins (9).

The whole picture of cytokine related signal transduction is far from completely uncovered. The cell- and cytokine specificity of receptor assembly, as well as the individual combination of JAK- and Stat patterns are the possible clues for the specific mechanism of individual cytokine actions (Fig.3).

Different cytokines

Fig.3

General scheme of cytokine-cytokine-receptor-JAK and Stat system, with multiple points for heterogeneity providing the basis for a broad variety for cytokine- and cell-specific pattern of cytokine actions.



REFERENCES

1. Sehgal PB, Grienger G, Tosato G eds (1989) Regulation of the acute phase and immune responses interleukin-6. New York : Ann NY Acad Sci, 557: 1-583.
2. Kishimoto T (1989) The Biology of interleukin-6. Blood 74: 1-10.
3. Bazan JF (1990) Structural design and molecular evolution of cytokine receptor superfamily. Proc.Natl Acad Sci USA,87: 6934-8.
4. Taga T, Hibi M, Hirata Y, Yamasaki K, Yasukawa K, Marsuda T, Hirano T, Kishimoto T (1989) Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. Cell,58: 573-81.
5. Kitamura T, Sato N, Arai K, Miyajima A (1991) Expression cloning of the human IL-3 receptor cDNA reveals a shared β -subunit for IL-3 and GM-CSF receptor. Cell 66: 1166-74.
6. Kondo M, Takeshita T, Higuchi M, Nakamura M, Sudo T, Nishikawa S-I, Sugamura K (1994) Functional participation of the IL-2 receptor complexes. Science, 263:1453-4.
7. Hibi M, Murakami M, Saito M, Hirano T, Taga T, Kishimoto T (1990) Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. Cell 63: 1149-1157.
8. Davis S, Aldrich TH, Ip NY, Stahl N, Scherer S, Farruggella T, DiStefano PS, Curtis R, Panayotatos N, Gascan H, Chevalier S, Yancopoulos GD (1993) Released form of CNTF receptor α components as a soluble mediator for CNTF responses. Science 259: 1736-9.
9. Hirano T, Matsuda T, Nakajuma K (1994) Signal transduction through gp130 that is shared among the receptors for the interleukin-6 related cytokine superfamily, Stem Cells,12:262-77.
10. Gearing DP, Cosman D (1991) Homology of the p40 subunit of natural killer cell stimulatory factor (NKSF) with the extracellular domain of the interleukin-6 receptor. Cell 66: 9-10.
11. Morla AO, Schreurs J, Miyajima A, Wang LYJ (1988) Haemopoietic growth factors activate the tyrosine phosphorylation of distinct set of proteins in interleukin in interleukin-3-dependent murine cell lines. Mol Cell Biol, 8: 2214-8.
12. Nakajima K, Wall R (1991) Interleukin-6 signals activating junB and TIS11 gene transcription in a B cell hybridoma. Mol Cell Biol.11: 1409-18.
13. Yin T, Miyazawa K, Yang Y-C (1992) Characterization of interleukin-11 receptor and protein tyrosine phosphorylation in-

duced by interleukin-11 in mouse 3T3-L1 cells. *J.Biol.Chem.* 267: 609-14.

14. Muller M, Briscoe J, Laxton C, Guschin D, Zierniecki A, Silvennomen O, Harpur AG, Barbieri G, Witthuhn BA, Schindler C, Pellegrini S, Wilks AF, Ihle IN, Stark GR, Kerr IM(1993). The protein tyrosine kinase JAK 1 complements defects in interferon α/β and γ -signal transduction. *Nature* 366: 129-35.

15. Kunz D, Zimmermann R, Heisig M, Heinrich PC(1989) Identification of the promoter sequences involved in the interleukin-6 dependent expression of the $\alpha 2$ -macroglobulin gene. *Nucleic Acid Res* 17: 1121-38.

16. Baumann H, Morella KK, Campos SP, Cao Z, Jahreis GP (1992). Role of CAAT-enhancer binding protein isoforms in the cytokine regulation of acute-phase plasma protein genes. *J.Biol.Chem.* 267: 19744-51.

FEBS Laboratory Course

"Techniques in Cell Biology"

June 12-21, 1995, Institute of Medical Biochemistry
Aarhus University, Aarhus, Denmark

Laboratory work will include: Basic cell culture methods, preparation of primary cultures, autoradiography, immunocytochemistry of cultured cells and tissues, monoclonal antibodies, 2D gel electrophoresis, electroelution, immunoblotting, microsequencing and microinjection of somatic cells. The course will also include demonstrations of computer aided 2D gel electrophoresis and microinjection, immobilized pH gradient electrophoresis, mass spectrometry and database searches.

Teaching staff: W. Ansorge (Heidelberg), B. Bjellqvist (Uppsala), J.E. Celis (Aarhus), A. Graessmann (Berlin), H. Leffers (Aarhus), P. Madsen (Aarhus), H.W. Mewes (Martinsried), M. Osborn (Göttingen), H.H. Rasmussen (Aarhus), P. Roepstorff (Odense), J.V. Small (Salzburg), and J. Vandekerckhove (Gent).

Applications should be sent to Prof. J.E. Celis, Institute of Medical Biochemistry and Danish Centre for Human Genome Research, Building 170, Aarhus University, DK-8000 Aarhus C, Denmark, not later than April 1, 1995. Applications should contain a short curriculum vitae, including a statement of proficiency in English.

A total of 22 FEBS fellowships to cover travelling and living expenses will be available to scientists under the age of 31 that are members of a national biochemical society. Please state in the application if you are a member of a biochemical society.

G PROTEINEK

Az élő sejtek egyik alapvető tulajdonsága a kommunikációs képesség. Ez a saját túlélésükhöz is elengedhetetlen, ám amikor egy magasabb szerveződési egység (szövet, szervezet) részeként kell funkcionálniuk, ennek fontossága hatványozódik. A sejtek bizonyos mértékig specializálódtak, hogy a külső környezetből érkező ingereket, jeleket fogják fel, vagy a szervezeten belüli információközvetítésben játszanak nagyobb szerepet, működési sémájuk azonban nagyon hasonló. Az elsődleges hírvivők (hormonok, neurotranszmitterek, citokinek, onkogének, fény, szag, stb.) legtöbbször nem lép be a sejtekbe, hanem a célsejtek felszínén lévő **specifikus receptorfehérjékhez** kötődik. A receptorok feladata azután, hogy az információt a sejt belsejébe továbbítsák és ott többlépcsős folyamat eredményeként, amelyet **szignál transzdukciós kaszkádnak** nevezünk, a megfelelő sejtválaszt kiváltják.

Amióta mintegy 30 évvel ezelőtt Sutherland és munkatársai [1] felfedezték, hogy az adrenalin úgy stimulálja a májsejtek glükóz termelését, hogy a sejtmembránban a specifikus receptorokhoz való kötődés után egy addig ismeretlen enzim, az adenilil cikláz (AC) aktiválódik, amely ATP-ből egy korábban szintén nem azonosított anyagot, a ciklikus adenzin monofoszfátot (cAMP) termel, világszerte élénk érdeklődés kíséri azokat a kutatásokat, amelyeknek célja annak megfejtése, hogy a külső jelek hogyan fordítódnak le a sejt nyelvére. Rodbell és munkatársai 1971-ben mutattak rá arra, hogy a hormonon kívül GTP (guanozin trifoszfát) jelenléte is szükséges az AC aktiválhatóságához és felvetették egy GTP-kötő reguláló fehérje létezését. A technológiai háttér hiánya miatt azonban ennek igazolása egy ideig váratott magára. Gilman és munkatársai előbb szétválasztották az AC-től egy GTP-kötő fehérjét [3], majd tisztított formában előállították és mesterséges foszfolipid vezikulákba tisztított β -adrenerg receptorral (β AR) és AC-vel együtt bevívve (adrenalin, ATP és GTP hozzáadásával) rekonstituálták a rendszer működését [4].

Rodbell és Gilman kulcsszerepét a GTP-kötő reguláló fehérjék, G proteinek felfedezésében 1994-ben az orvosi Nobel-díj odaítélésével jutalmazták. Ez a kitüntetés egyúttal természetesen jelzi a téma fontosságát is. A világszerte intenzíven folyó kutatások eredményeként mára világossá vált, hogy egy egész fehérjecsalád létezik, amelynek tagjai valamennyien képesek GTP-t kötni és hidrolizálni (l. később) és fontos szerepet játszanak a legkülönbözőbb sejt folyamatok irányításában pro- és eukariótákban egyaránt [5-7]. A család egyik csoportjába kis molekulású (21-28 kDa), egyetlen polipeptid láncból álló fehérjék tartoznak mint pl. p21^{ras}, EF-Tu, amelyek intracelluláris folyamatokat, pl. sejt növekedés, differenciálódás ill. fehérjeszintézis szabályoznak. A család másik csoportját nagyobb fehérjék (39-52 kDa) alkotják, amelyek valamennyien heterotrimerek és külső szignálokat közvetítenek, ez utóbbiakat képezik a tárgyát a jelen összefoglaló munkának.

A G proteinek szerkezete és funkciója

Az első G protein, az AC stimulálását kiváltó ún. G_s ('stimulatory') felfedezése után hamarosan ismertté vált, hogy a cAMP-szint csökkenését indukáló receptorok az előbbiétől különböző ún. G_i ('inhibitory') fehérje közvetítésével befolyásolják az AC működését [8]. Az előbbiektől eltérő G proteint is identifikáltak idegszövetben, ahol a sejtmembrán összfehérje mennyiségének 1-2%-át alkotja az ún. G_o ('other' utalva arra, hogy a funkcióját

nem ismerték). Későbbi munkák kimutatták, hogy ez a fehérje K^+/Ca^{2+} -ioncsatornákkal áll funkcionális kapcsolatban [9]. Ismét más G fehérjék közreműködnek a foszfolipáz C enzim hormonális regulációjában ($G_{q/11}$), ill. olyan külső stimulusok, mint fény, szag által kiváltott jelátviteli folyamatokban (G_i , G_{olf}) [10].

Az eddig felsorolt G proteinek esetén előbb ismerték fel, hogy az adott biokémiai folyamat GTP-függő, tehát feltételezhetően G proteinek közvetítésével történik, amely utóbbi azután tisztították, molekulásúlyát és aminosav összetételét meghatározták [5,6,10,11]. Napjainkban a molekuláris biológia eszközeinek bevezetésével ez éppen fordítva történik: előbb találnak egy addig ismeretlen G proteint kódoló cDNS-t (pl. szerkezeti homológia alapján) és utána keresnek neki funkciót. Ez azonban esetenként hosszabb időt igényel, ezért míg a G proteinek elnevezése korábban utalt a funkcióra, napjainkban "csak" sorszámokkal látják el őket (l. 1. táblázat) [6,10].

A jelátviteli folyamatokban részt vevő G proteinek valamennyien heterotrimerek, nyugalmi állapotban $\alpha\beta\gamma$ komplexet képeznek. A β (37 kDa) és γ (8 kDa) alegységek nem-denaturáló körülmények között egy egységet képeznek. Míg korábban az a nézet uralkodott, hogy a szignál transzdukcióban nem játszanak szerepet, hanem az aktivált α alegységgel komplexet képezve gátolják azt; újabb kísérletek rávilágítottak arra, hogy egyes rendszerekben ezek is aktiválnak effektorokat (pl. élesztőben az ún. mating faktor működésékor, szív átrium sejtekben a K^+ -csatorna aktiválásakor) [10]. A legtöbb α alegység integrális membránfehérjeként viselkedik, csak detergenssel nyerhető ki a plazmamembránból, ami azért különös, mivel a szekvenciájukban nincsenek hidrofób régiók. Többfajta lipid modifikáció játszhat szerepet a G protein alegységek plazmamembrán asszociációjában; így kimutatták, hogy az α_i és α_o mirisztóilálva vannak, az α_s palmitóilálódik, a γ pedig a C-terminálison isoprenilálódik [10,12]. A G proteinek α alegysége az, ami a specifikitást hordozza és amelyik a legtöbb rendszerben megszabja, hogy egy bizonyos stimulusra milyen effektorokon keresztül milyen válaszreakció történjen. Az α alegységek további funkciója, hogy: a) nagy (nanomólos) affinitással kötnek GTP-t; b) 'intrinsic' GTP-áz aktivitásuk révén a kötött GTP-t elhidrolizálják, tehát mintegy 'timer'-ként viselkedve megszabják, hogy az α_{GTP} meddig maradjon aktív; c) a különféle receptorok és effektorok között biztosítják az információ áramlást; d) egyes bakteriális toxinok szubsztrátjai. Ez utóbbi, vagyis hogy NAD kofaktort használva a toxinok ADP-ribosziltranszferázként viselkednek, fontos szerepet töltött ill. tölt be ma is a G proteinek szerkezetének és funkciójának megismerésében. Annak demonstrálása, hogy a CTX vagy PTX (l. 1. táblázat) *in vivo* befolyásol egy fiziológiás választ, az első indikáció lehet arra, hogy G fehérjék szerepet játszanak az adott folyamatban.

A legutóbbi összefoglalók 21 különféle G protein α alegységet kódoló cDNS klónozásáról számolnak be, amelyek 17 gén termékei [6,10]. Az aminosavsorrend hasonlósága alapján négy nagyobb alcsoportba oszthatók, G_s , G_i , G_q , G_{12} . A G_s α esetén a mRNS alternatív hasítása négy különböző polipeptidet eredményez, amelyek SDS gélen mint két elkülöníthető fehérje jelennek meg 45 és 52 kDa látszólagos molekulatömeggel. Hasonlóan, alternatív splicing-gal a G_o 2 formája keletkezik. A G_i család 3 tagja viszont 3 gén terméke. Némely α alegység szöveti expressziója meglehetősen specifikus: a transzducin egyik formája, G_{i1} csak a retina pálcikákban, a másik forma G_{i2} csak a csapokban fordul elő. Ugyanakkor arra is van példa, hogy egy adott sejtben többfajta G protein is működik (l. 1. táblázat).

1. táblázat. Emlős G-protein α alegységek tulajdonságai.

Család/alegység	Tömeg (kDa x 10 ⁻³)	Homológia ^a	Toxin ^b	Szöveti eloszlás	Reprezentatív receptorok	Effektor/funkció
G_s						
$\alpha_{S(S)}(2X)^c$	44.2	100	CTX	Általános	BAR ^d , glukagon	↑ Adenilil cikláz
$\alpha_{S(L)}(2X)^c$	45.7	--	CTX	Általános	TSH, mások	↑ Ca ²⁺ csatornák ↓ Na ²⁺ csatornák
α_{olf}	44.7	88	CTX	Szaglóhám	Szagló	↑ Adenilil cikláz
G_i						
α_{i1}	40.3	100	PTX	Majdnem általános		↑ K ⁺ csatornák
α_{i2}	40.5	88	PTX	Általános	M ₂ Cho, α_2 AR, mások	↓ Ca ²⁺ csatornák
α_{i3}	40.5	94	PTX	Majdnem általános		↓ Adenilil cikláz (?) ↑ Foszfolipáz C (?)
α_{oAc}^c	40.0	73	PTX	Agy, mások	Met-Enk, α_2 AR, mások	↑ Foszfolipáz A ₂ (?)
α_{oS}^c	40.1	73	PTX	Agy, mások		
α_{i1}	40	68	CTX,PTX	Retina pálcika	Rodopszin	↑ cGMP-függő
α_{i2}	40.1	68	CTX,PTX	Retina csap	Csap opszin	foszfodiészteráz
α_g	40.5	67	CTX (?) PTX	Ízlető bimbók	Íz (?)	?
α_z	40.9	60		Agy, vérlemezke neuron	M ₂ Cho (?) mások (?)	↓ Adenilil cikláz (?) mások (?)
G_q						
α_q	42	100		Majdnem általános	M ₁ Cho, α_1 AR, mások	↑ Foszfolipáz C- β_1 , - β_2 , - β_3 mások (?)
α_{i1}	42	88		Majdnem általános		
α_{i4}	41.5	79		Tüdő, vese, máj	?	
α_{i5}	43	57		B sejtek, myeloid sejtek	?	?
α_{i6}	43.5	58		T sejtek, myeloid sejtek	?	↑ Foszfolipáz C- β_1 , - β_2 , - β_3
G₁₂						
α_{i2}	44	100		Általános	?	?
α_{i3}	44	67		Általános	?	?

^a% Aminosav azonosság; összehasonlítás minden család elsőként említett tagjával.
^bKolera toxin (CTX) és pertussis toxin (PTX) katalizálja a jelzett α alegység ADP-riboszilációját Arg (CTX) és Cys (PTX) aminosav maradékon.
^cSplice variánsok. $\alpha_{S(S)}$, az α_S rövid; $\alpha_{S(L)}$ az α_S hosszú formája.
^dReceptor rövidítések: BAR: β -adrenerg; M₂Cho: M₂-muszkáros kolinerg; α_2 AR: α_2 -adrenerg; Met-Enk: metionin-enkefalin; M₁Cho: M₁-muszkáros kolinerg; α_1 AR: α_1 -adrenerg receptor.

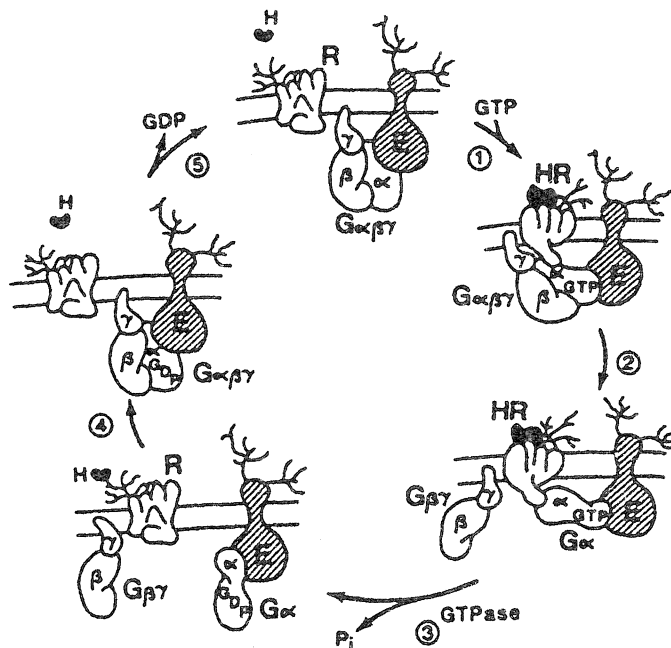
A fentiekből kitűnik, hogy a különféle α alegységek számos közös funkciót töltenek be, így nem meglepő, hogy a szerkezetük nagyfokú hasonlóságot mutat: 350-395 aminosavból állnak és a család tagjai összességében mintegy 40%-os homológiát mutatnak, amely egy-egy alcsoporton belül 60-90%-ot is elérhet.

A jelátvitel mechanizmusa

Az elmúlt két évtizedben világszerte intenzíven folytatott kutatásoknak köszönhetően robbanásszerűen növekedtek az ismereteink arról, hogy az extracelluláris jelek által szállított

információk milyen mechanizmusok révén aktiválják a sejten belüli életfolyamatokat.

A G proteinek nyugalmi állapotban $\alpha\beta\gamma$ heterotrimerként fordulnak elő. Amikor a hormon (H) a receptorhoz (R) kötődik (1. ábra), ez olyan konformációváltozást hoz létre, melynek következtében a receptor nagy affinitást mutat mind a hormonhoz, mind a G proteinhez, amely utóbbinak az α -alegysége ennek hatására GTP-t köt. Ezáltal a G_α aktiválódik, konformációja megváltozik, ami két következménnyel jár: egyrészt a G protein disszociál a HR komplexről, miáltal a R alacsony affinitású állapotba kerül; másrészt az α_{GTP} ledisszociál a $\beta\gamma$ alegységről.



1. ábra. Jelátviteli folyamatok a sejt felszíni receptorokról (R) a megfelelő effektor (E) rendszerekre heterotrimer ($\alpha\beta\gamma$) G proteinek (G) segítségével; α_{GTP} keletkezése és hidrolízise.

Az aktivált α -alegység, ill. a legutóbbi kutatások szerint egyes rendszerekben a $\beta\gamma$ is, működésbe hozza a megfelelő effektorokat (E). Néhány másodperc múlva a G_α intrinsic GTP-áz aktivitása révén elhidrolizálja a megkötött GTP-t, ezáltal a reakciót pl. cAMP termelést leállítja és a ciklus bezárul, visszaáll a nyugalmi helyzet.

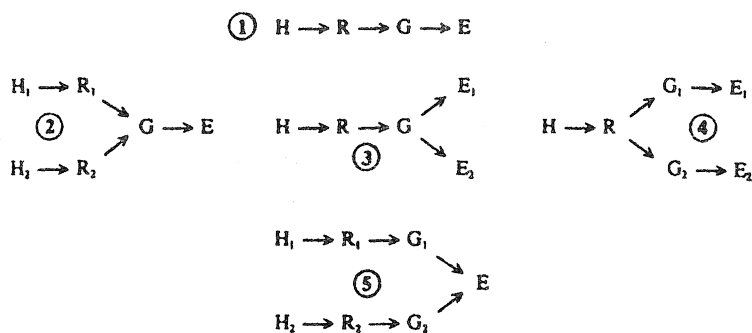
Igy a G proteinek molekuláris kapcsolóként működnek, amelyek meghatározzák, hogy egy bizonyos jelátviteli folyamat mikor, milyen stimulusra legyen beindítva és mennyi ideig maradjon bekapcsolva. Emellett erősítik is a jeleket. Egy rodopszin molekula szimultán mintegy 500 G_i -t képes aktiválni.

Fentebb vázolt mechanizmust legrészletesebben az adenilil ciklázon keresztül működő receptoroknál (adrenerg, muszkarinerg), ill. a látásban szerepet játszó rodopszin (R), transzducin (G_i), cGMP-függő foszfodiészteráz (PDE) rendszerben tanulmányozták. Más effektorok, pl. ioncsatornák, foszfolipáz C, foszfolipáz A esetén a kaszkád még nem ennyire ismert. Az elemi lépések molekuláris feltérképezése, pl. a receptorokkal vagy az egyes effektorokkal történő kapcsolódásban szerepet játszó szekvenciadarabok azonosítása molekuláris biológiai eszközökkel intenzíven folyik. További nagy előrelépés várható a részt vevő fehérjék 3-dimenziós szerkezetének megismerése után. Ez utóbbira is van már példa,

példa, az EF-Tu és p21^{ras} onkogént sikerült kristályosítani és 3-D szerkezetét röntgendiffrakcióval meghatározni [12]. A Gilman laboratórium az idei Nobel díj kiosztásával egyidőben közölte a G_{ia1} aktív formájának térszerkezetét és a GTP-áz aktivitásban szerepet játszó aminosavakat azonosították [14].

Azoknak a receptoroknak, amelyek hasonló jelátviteli mechanizmust használnak, meglepően hasonló a szerkezete. Így az a mintegy száz receptor, köztük számos neurotransmitter (adrenerg, dopaminerg, kolinerg), hormon ill. neuropeptid (endothelin, vazopresszin, P anyag), amely G fehérjéken keresztül működik, 40-50 kDa molekulatömegű és 7 erősen hidrofób transzmembrán régiót (mágikus 7) tartalmaz [15]. Ezekben a régiókban belül a primer aminosavszekvencia nagyfokú homológiát mutat és feltételezések szerint ún. 'binding pocket' létrehozásával a ligandkötésért felelősek. Az eddigi eredmények azt mutatják, hogy a G proteinekhez való kapcsolódásban viszont a második és harmadik citoplazmás hurok vesz részt.

A receptorok aktivációja különböző szövetekben eltérő fiziológiás hatásokat válthat ki, ami arra utal, hogy egy R többféle G fehérjéhez kapcsolódhat. Egyes receptorok (pl. muszkarinerg) homológ G fehérjékhez (G_i, G_o vagy G_q) kapcsolódva képesek gátolni az adenilil cikláz vagy a PLC-t aktiválni. Ezzel szemben, rekombináns paratiroid és calcitonin receptorok expressziója cikláz stimulálást és PLC aktiválást eredményez, tehát egy receptor két különfajta (G_s és G_q) fehérjét is képes működésbe hozni. Különböző receptorok azonos G proteinhez kapcsolódva hasonló effektust válthatnak ki (pl. NG 108-15 sejtekben a muszkarinerg és opioid receptorok G_i-n keresztül cAMP csökkenést váltanak ki). A lehetséges variációkat a 2. ábra és [5,16] foglalja össze. Mai ismereteink szerint több mint 100-féle receptor a 21 G protein α , 5 β és 10 különböző γ alegység valamelyikéhez kapcsolódva aktivál közel 20-féle effektort. Ezen fehérjék hozzávetőleg 1000 kombinációs lehetősége adja a molekuláris hátterét a jelátvitel igen bonyolult, de ugyanakkor magasan specializálódott és koordinált működésének. Azt, hogy az egyes stimulusokra milyen válaszreakcióval válaszol egy adott sejt, a R, G és E sztöchiometriája határozza meg. A specifitás megvalósulásának egy másik módja a kompartmentalizáció.

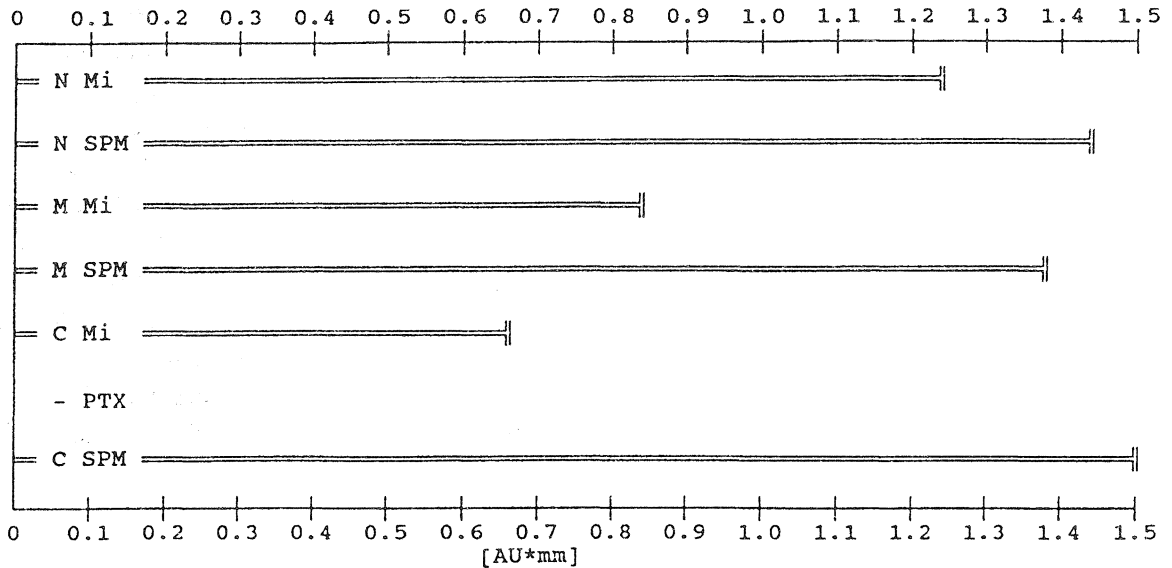


2. ábra. A G proteineken keresztül történő szignál transzdukció modelljei [5].

G proteinek szerepe az opioid receptorok működésében (saját eredmények)

Az opioid ligandok, amelyek legismertebb tagjai az alkaloid morfin és az endogén opioid peptidek (enkefalinok, endorfinok, dinorfinok) az idegsejtek membránján lévő specifikus

opioid receptorokhoz (OR) kötődve különféle fiziológiai effektust (analgészia, eufória, légzésbénítás, viselkedési és endokrin hatások) váltanak ki. Ismeretes, hogy az opioid hatások közvetítésében a pertussis toxin-szenzitív G_i , G_o fehérjék vesznek részt [17-18]. Amerikai kutatókkal közösen leírtuk, hogy felnőtt patkány agy homogenátum szubcelluláris frakcionálása után az összes OR mintegy 1/3-a intracellulárisan, az ún. mikroszóma (MI) frakcióban található és ezek nem kapcsolódnak G fehérjékhez, míg az SPM-ben igen (19). Egy berlini laboratóriummal együttműködésben specifikus ellenanyagokkal igazoltuk, hogy a G_i , G_o , G_s fehérjék mindkét frakcióban jelen vannak [20]. Funkcionális mérésekkel, mint pl. GTP-áz aktivitás, $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{GTP}$ -azidoaniliddal végzett fotoaffinitásjelöléssel is kimutattuk, hogy a MI-ben az opioid kötőhelyek nem kapcsolódnak az ott lévő G proteinekhez [19-22]. Kísérleti állatok krónikus morfin kezelése után a totál G protein szint növekedését észleltük $[\text{S}^{35}]\text{GTP}\gamma\text{S}$ kötési módszerrel a MI frakciókban, majd PTX-dependens ADP-ribozilációval (3. ábra) és Western-blot kísérletekkel igazoltuk, hogy a kezelés hatása elsősorban a G_i/G_o mennyiségének növekedését eredményezte [21-22].



3. ábra. Pertussis toxin-dependens (PTX) G proteinek kimutatása patkány SPM és MI frakciókban. A membránproteineket $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{NAD}$ jelenlétében PTX-szel kezeltük, majd a kovalensen ADP-ribozilált α_i/α_o alegységeket SDS-PAGE gélelektroforézissel elválasztottuk és autoradiográfiával láthatóvá tettük. Az ábra bal oldala a röntgenfilmen kapott feketedést mutatja, amelynek lézerdenzitometriás kiértékelése (AU*mm egységben) az ábra jobb oldalán látható a különböző mintákban (C: kontroll, N: krónikus naltrexon kezelés után, M: krónikus morfin kezelés után izolált SPM és MI frakciók).

Eredményeink és más irodalmi adatok arra engednek következtetni, hogy a G proteineknek szerepe lehet az opioid tolerancia-dependencia folyamatának kialakulásában. További kitüntetett szerepük lehet a mikroszóma frakcióban található, endoplazmás retikulum és Golgi-membrán eredetű opioid kötőhelyeknek, amelyeknek up-regulációját észleltük krónikus morfin kezelés után [22]. Vannak olyan elméletek, melyek szerint még a sejt felszíni

receptorok a prompt válaszok kiváltásában játszanának szerepet, addig a lassúbb, adaptív változásokat intracelluláris mechanizmusok szabályoznák. Fenti folyamatok molekuláris szintű tanulmányozása reményeink szerint közelebb visz az opioidoknak a humán gyógyászatban történő alkalmazását korlátozó tolerancia-dependencia, ill. általában a gyógyszerfüggőség folyamatainak megértéséhez, majd kiküszöbölésükhöz.

Utószó [23]

It seems there is nothing
G proteins cannot do.
Come up with a function and
We will find the G for you.

Szücs Mária és Fábíán Gabriella
MTA Szegedi Biológiai Központ
Biokémiai Intézet

IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- 1.) Rall TW, Sutherland EW, Berthet J. The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase IV. *J. Biol. Chem.* 224: 463-475 (1957).
- 2.) Rodbell M, Birnbaumer L, Pohl SL, Krans HMJ. The glucagon-sensitive adenylyl cyclase-system in plasma membranes of rat liver V. An obligatory role of guanyl nucleotides in glucagon action. *J. Biol. Chem.* 246: 1877-1882 (1971).
- 3.) Ross EM, Gilman AG. Resolution of some components of adenylate cyclase necessary for catalytic activity. *J. Biol. Chem.* 252: 6966-6969 (1977).
- 4.) May DC, Ross EM, Gilman AG, Smigel MD. Reconstitution of catecholamine-stimulated adenylate cyclase activity using three purified proteins. *J. Biol. Chem.* 260: 15829-15833 (1985).
- 5.) Birnbaumer L. Transduction of receptor signal into modulation of effector activity by G proteins: the first 20 years or so... *FASEB J.* 4: 3178-3188 (1990).
- 6.) Emala CW, Schwindiger WF, Wand GS, Levine MA. Signal-transducing G proteins: basic and clinical applications. *Prog. Nucl. Acid Res. and Mol. Biol.* 47: 81-110 (1994).
- 7.) Linder ME, Gilman AG. *Sci. American.* 267: 36-43 (1992).
- 8.) Neer EJ, Lok JM, Robishaw JD. Purification and properties of the inhibitory guanine nucleotide regulatory unit of brain adenylate cyclase. *J. Biol. Chem.* 259: 14222-14229 (1984).

- 9.) Hescheler J, Rosenthal W, Trautwein W, Schultz G. The GTP-binding protein, N_o regulates neuronal calcium channels. *Nature (London)* 325: 445-447 (1986).
- 10.) Hepler JR, Gilman AG. G proteins. *Trends in Biochem. Sci.* 17: 383-387 (1992).
- 11.) Gilman AG. G proteins: Transducers of receptor-generated signals. *Ann. Rev. Biochem.* 56: 615-649 (1987).
- 12.) Spiegel AM, Backlund PS Jr, Butrynski JE, Jones TLZ, Simonds WF. The G protein connection: molecular basis of membrane association. *Trends in Biochem. Sci.* 16: 338-341 (1991).
- 13.) Berlot CH, Bourne HR. Identification of effector-activating residues of G_{sa} . *Cell* 68: 911- (1992).
- 14.) Coleman DE, Berghuis AM, Lee E, Linder ME, Gilman AG, Sprang SR. Structures of active conformations of $G_{i\alpha 1}$ and the mechanism of GTP hydrolysis. *Science* 256: 1405-1412 (1994).
- 15.) Hedin KE, Duerson K, Clapham DE. Specificity of receptor-G protein interactions: searching for the structure behind the signal. *Cellular Signalling* 5: 505-518 (1993).
- 16.) Neer EJ, Clapham DE. Roles of G protein subunits in transmembrane signalling. *Nature* 333: 129-134 (1988).
- 17.) Childers SR. Opioid-coupled second messenger systems. *Life Sci.* 48: 1991-2003 (1991).
- 18.) Simonds WF. The molecular basis of opioid receptor function. *Endocrine Rev.* 9: 200-212 (1988).
- 19.) Szűcs M, Coscia CJ. Differential coupling of opioid binding sites to guanosine triphosphate binding regulatory proteins in subcellular fractions of rat brain. *J. Neurosci. Res.* 31: 565-572 (1992).
- 20.) Fábíán G, Szikszay M, Spicher K, Offermanns, Rottmann M, Szűcs M. Effects on opioids in subcellular fractions of rat brain. *Neurobiology* 2: 48 (1994).
- 21.) Fábíán G, Szikszay M, Szűcs M. Effect of chronic morphine treatment on rat brain G-proteins. *Eur. J. Neurosci.* S7 (1994).
- 22.) Szűcs M, Fábíán G, Tombor B, Bozó B, Szikszay M. Alteration of mu-opioid receptors and G-proteins in brains of morphine tolerant rats. *Soc. Neurosci. Abs.* 704.1, Miami, USA, (1994).
- 23.) Rasenick MM. G_s . *Trends in Biochem Sci.* 17: 71 (1992).

Localisation of functionally relevant domains in proteins

Dr. Ferenc Hudecz

*Research Group of Peptide Chemistry,
Hungarian Academy of Science*

In the middle of the 19th century, the Dutch chemist Gerardus Mulder extracted a substance common to animal tissues and the fluids of plants. He believed that this substance “without doubt the most important of all substances of the organic kingdom, and without it life on our planet would probably not exist.” Mulder following the suggestion of Berzelius, named this substance *protein* (from the Greek *proteios* meaning “of first importance”). Proteins play key roles in almost all biological processes. They are structurally and functionally the most diverse and dynamic of molecules. It has been estimated that there may be 100 000 different kind of protein molecules in the human body. (It is interesting to note that every human is believed to have the potential for generating 10^6 - 10^8 different antibody molecules.)

The most important properties of a protein are determined by the sequence of amino acids in the polypeptide chain. The method for primary structure analysis was developed in F. Sanger's laboratory and first used to determine the sequence of the peptide hormone insulin in 1953. 25 years after the work with insulin, the Atlas of Protein Sequence and Structure listed the amino acid sequence of 1081 proteins, comprising 119,006 amino acid residues (1978).

Having established a total amino acid sequence of a protein by classical means or by DNA techniques, the next challenge is the definition of secondary and tertiary structures. Knowledge of the three-dimensional (3D) structure of a protein is central to localise (and engineer systematically) the function. The structural information can define the residues forming binding site for a ligand. The three-dimensional structure of the first protein (sperm whale myoglobin) was elucidated by J. Kendrew and his colleagues in 1962. The specific architecture of more than a hundred protein molecules was discovered by 1982 and the structures of several hundred proteins have been recorded and deposited in the Brookhaven Database until 1993.

Determination of the amino acid sequences of proteins is now much less technically complex than the determination of the ultimate secondary and tertiary structures. These may be determined experimentally by use of X-ray crystallography, NMR or by theoretical calculations. Due to the limitations in above mentioned techniques available for the number of known primary sequences may be measured in the thousands (17 000 in 1991), whilst 3D structures are exemplified only in the hundreds. It should be noted that this gap is growing. At present time (1992), fewer than 100 new protein structure will be revealed in a year by these experimental methods, whereas the sequences of at least 1000 proteins are obtained from their cloned gene sequences. Accordingly, computer algorithms are being used increasingly to obtain structural information for a protein from its sequence.

In spite of the introduction of new experimental and theoretical approaches and techniques to be discussed in this lecture, the identification of the exact site(s) of interaction responsible for

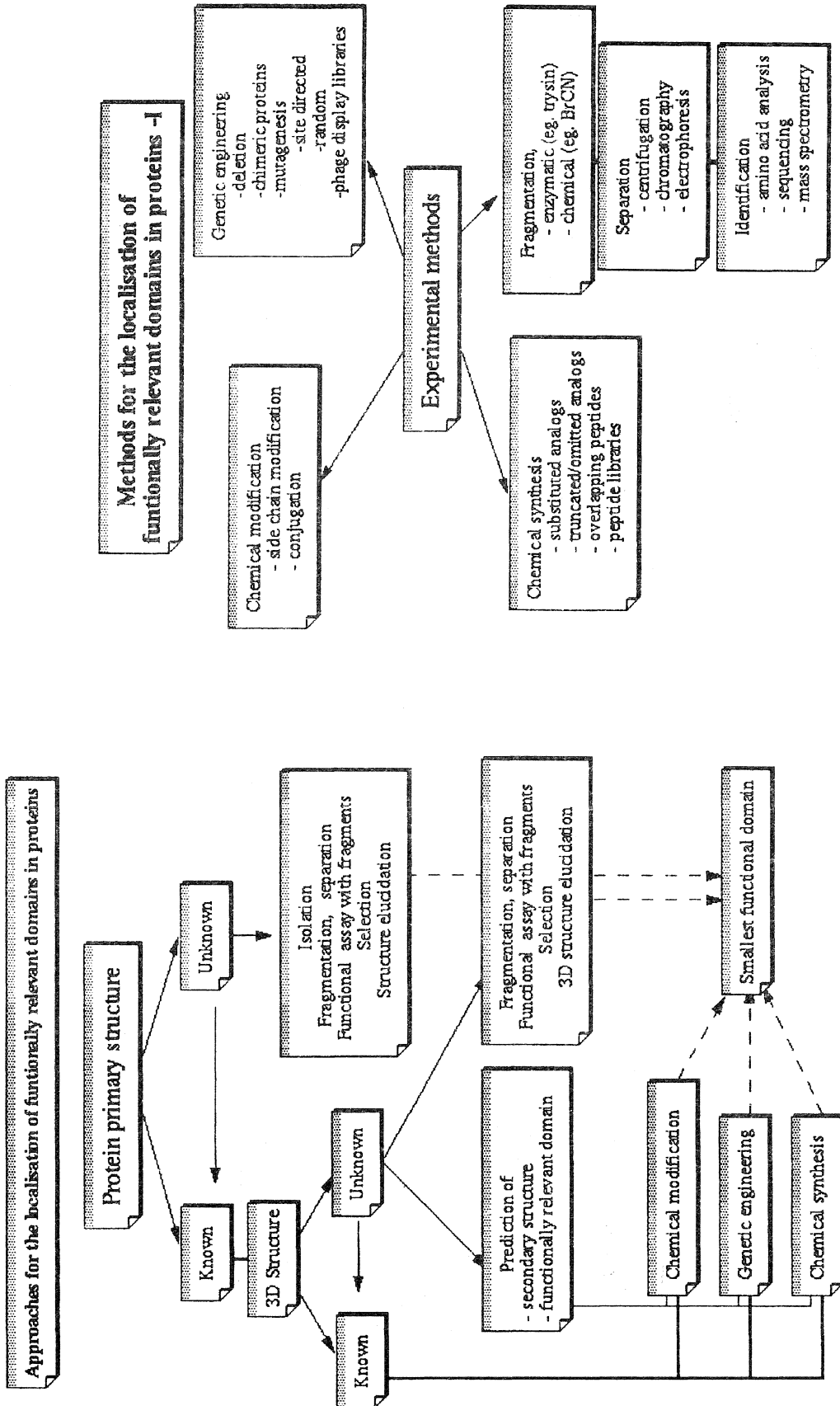
relevant biological function remains a challenge. Because of the great functional (and structural) diversity of proteins, it is difficult to find a proper classification scheme to cover all known proteins and also to suggest a single approach which can be used for the localisation of functionally relevant domains within a protein molecule. For the purpose of this lecture, proteins were grouped according to their function (Figure 1).

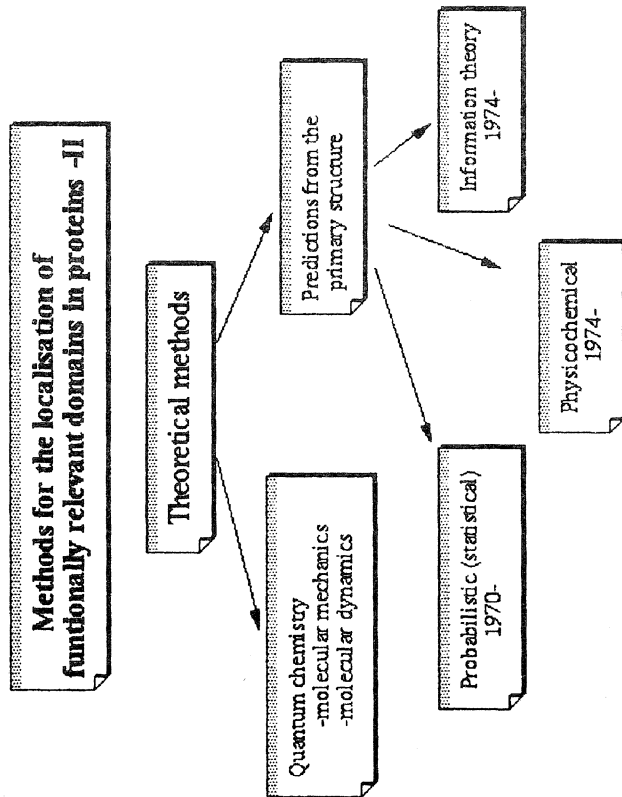
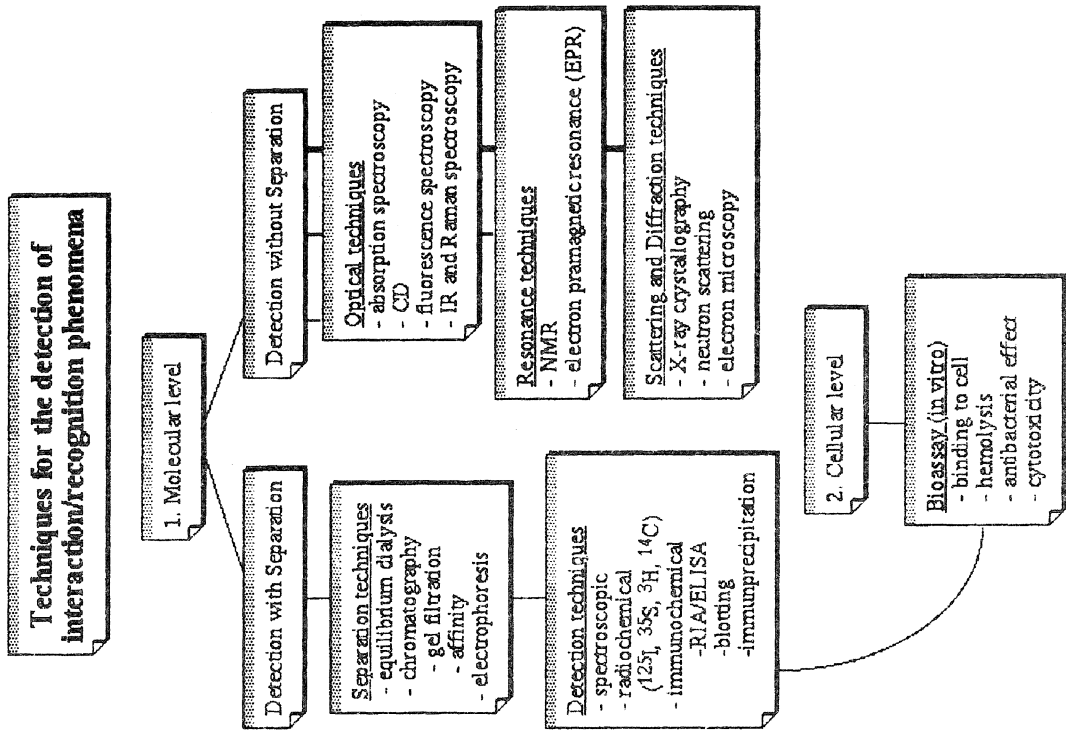
- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1. Enzymatic catalysis | (eg. Ser proteases) |
| 2. Transport | (eg. transferrin for iron, serum albumin for fatty acids) |
| 3. Storage | (eg. ferritin for iron in liver, casein in milk) |
| 4. Protection | |
| -toxins | (eg. ricin [plant], diphtheria [bacteria]) |
| -self and non-self discrimination | immune protection |
| | (eg. antibodies, antigens) |
| 5. Signal transduction | (eg. hormones, receptors) |
| - nerve impulses | |
| - growth | |
| - differentiation | |
| 6. Cell to cell communication | (eg. adhesion molecules; factors, receptors) |
| 7. Coordinated motion | (eg. muscle proteins) |
| 8. Mechanical support | |
| - at cellular level | (eg. membrane proteins) |
| - at tissue level | (structural proteins, eg. collagen in skin, bone) |

This presentation will cover traditional and recent approaches leading to the establishment of minimal active structure within proteins of different functional properties. Strategies based on chemical synthesis (a), chemical modification of proteins (b), fragmentation (c), genetic engineering (d) will be outlined. After providing a brief overview of a complicated and rapidly evolving subject, specific examples will be given to illustrate the advantages/disadvantages of discussed strategies. It is hoped that this gives the reader the essence of the topic and its importance in advancing knowledge of many crucial structure-function correlations of the living organisms.

RECOGNITION PHENOMENA

Interaction	K_d [M]
1. Enzyme - substrate	$10^{-3} - 10^{-5}$
2. Transporter - ligand	$10^{-6} - 10^{-8}$
3. Hormon - receptor	10^{-9}
4. Antibody - antigen	$10^{-7} - 10^{-11}$
5. Storage protein - ligand	
6. Toxin - receptor	
7. Protein - protein (in a contractile superassembly)	
8. Lectin - carbohydrate	$10^{-4} - 10^{-7}$
9. Avidin - biotin	10^{-15}



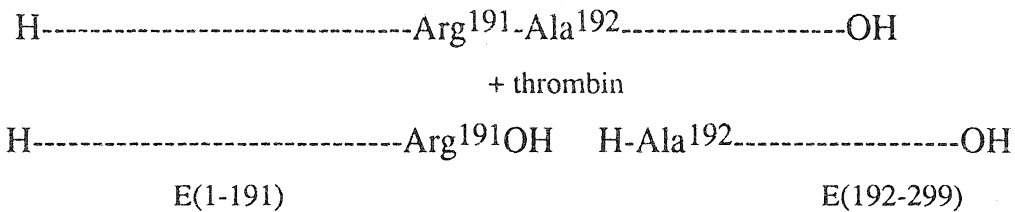


Example 1**Heparin binding domains of Apolipoprotein E.**

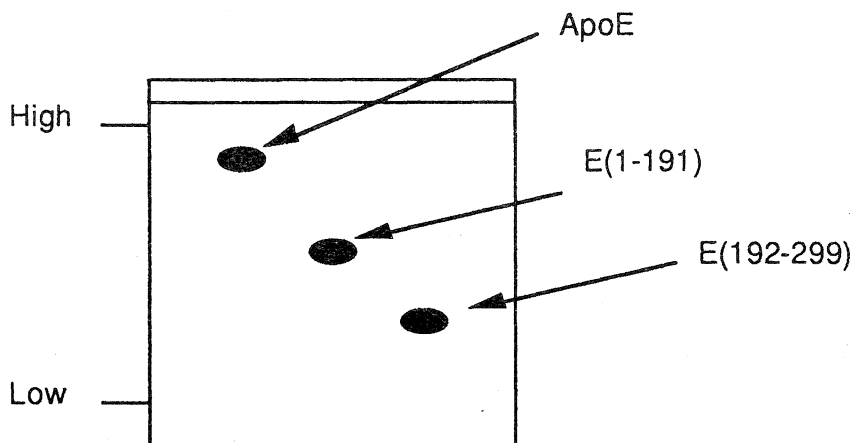
- Heparin : glycosaminoglycan (GAG)
- Apolipoprotein E: human plasma lipoprotein (ApoE),
299 amino acid, 3D structure unknown
- Interaction: Major interactions are electrostatic and involve the negatively charged sulfates and carboxylates on the GAG and positively charged residues on the protein.
- Aim: Identification of primary GAG interaction sites (motifs), which can be used for prediction based on initial sequence inspection.

Phase I

- 1.step Fragmentation of the lipid-free protein.
Method: Enzymatic cleavage.



- 2.step Separation of the fragments
Method: Linear 6 - 20 % polyacrylamide gel electrophoresis containing 6 M urea and 0.1% SDS.



3.step

Binding studies with ¹²⁵I-labelled heparin

Method:a. Transfer of fragments to nitrocellulose by blotting.

b. Incubation of nitrocellulose with labelled heparin.

c. Radioautoradigraphy.

Observation:

ApoE and the two thrombin fragments bind heparin, indicating a minimum of two heparin-binding domains.

Phase II

1.step

Synthetic peptide with successive deletions from the amino- and carboxyl-terminal ends were prepared by SPPS.

Residue**Amino acid sequence**

129-169	STEELRVRLASHLRKLRKLLRDADDLQKRLAVYQAGAREG
139-169	HLRKLRKLLRDADDLQKRLAVYQAGAREG
144-169	LRKLLRDADDLQKRLAVYQAGAREG
148-169	LLRDADDLQKRLAVYQAGAREG
141-155	LRKLRKLLRDADDL

2.step

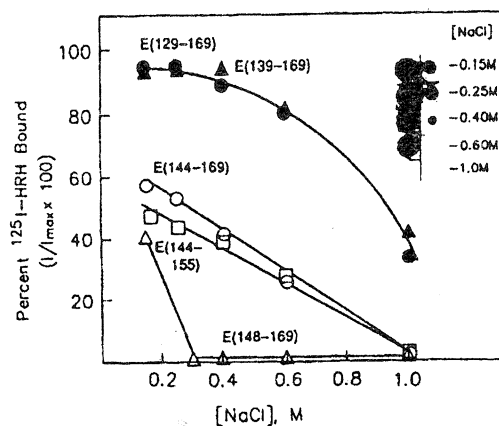
Binding studies with ¹²⁵I-labelled heparin. Dot-blot assay.

Method:

a. Application of peptides to nitrocellulose.

b. Incubation of nitrocellulose with labelled heparin.

c. Radioautoradigraphy.



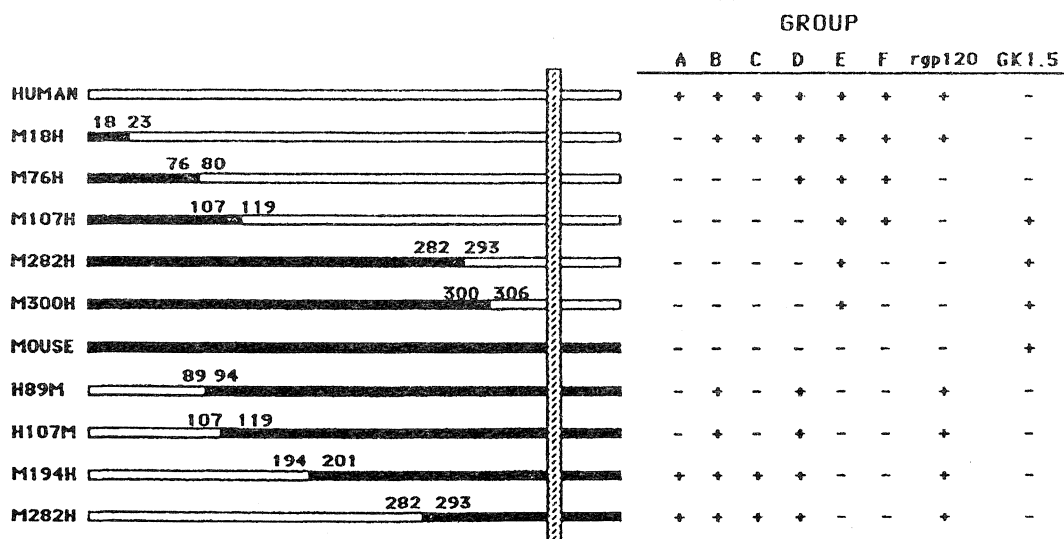
Observation: The critical residues for heparin binding resided between amino acid 144 and 150 (Leu-Arg-Lys-Arg-Leu-Leu-Arg).

Reference:

A.D.Cardin et al. Methods in Enzymology 203, 556 (1991)

Example 2 Molecular Mapping of Immunogenic Determinants of human CD4 Using Chimeric Interspecies Molecules and Antibodies.

CD 4/L3T4 :	lymphocyte antigen, expressed on helper T-cells and macrophages, primary and 3D structure known for CD4 (human), primary structure for L3T4 (mouse)
Antibodies:	37 human and mouse monoclonal antibodies recognising CD4/L3T4 positive cells.
Interaction:	Antibody - antigen interactions.
Aim:	Identification of epitop regions recognised by anti-CD4 antibodies. (Lack of binding of certain antibodies to overlapping peptides corresponding to CD4 indicated the presence of discontinuous conformational epitopes.)
1.step	Preparation of chimeric CD4 cDNA molecules using human CD4 and mouse L3T4 cDNA clones. Method: Recombinant DNA technique. (Bacterial homologous recombination system.)
2.step	Expression of chimeric CD4 cDNA molecules. Method: Transfection into an L3T4 negative variant of the murine T-cell line, EL-4.
Observation:	9 chimeric L3T4/CD4 (mouse amino terminal) and CD4/ L3T4 (human amino terminal) molecules with cross-over in the extracellular region of the mature protein were generated (Figure).

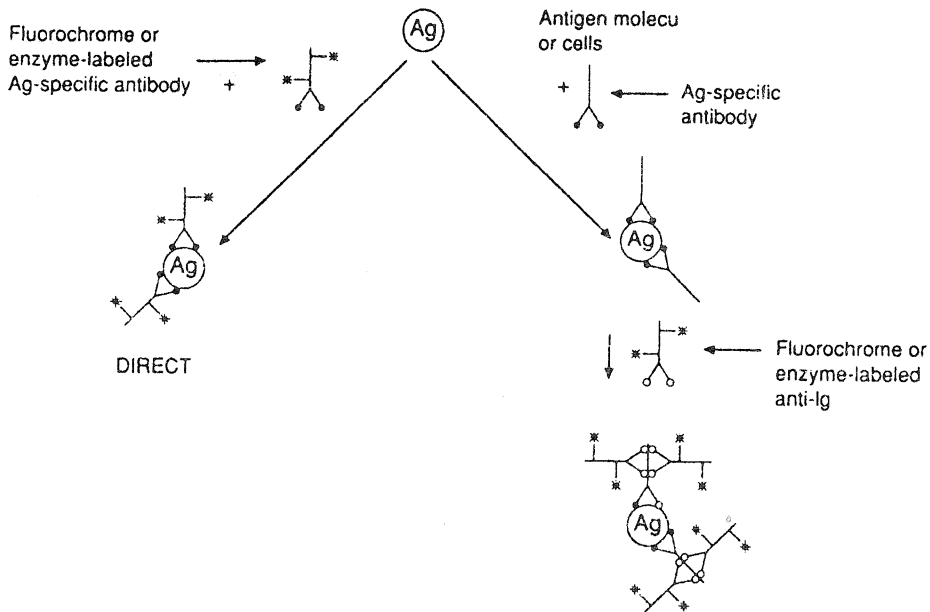


3.step

Binding studies with purified CD4 or L3T4 specific antibodies on EL-4 cells expressing chimeric CD4 in 3D form.

Method:

- a. Staining cells with CD4/L3T4 antibodies.
- b. Incubation of stained cells with FITC-labelled goat anti-mouse Ig.
- c. Flow cytometry on FACS.



Observation:

All chimeric molecules analysed resulted in transfectants detectable with human and/or mouse specific anti-CD4 antibodies. Using the chimerics, it was possible to localise most of the CD4 epitopes to specific region of the CD4 protein.

NB.:

1. CD4/L3T4 recognise antigen in the context of class II MHC antigens.
2. As expected from their functional similarities, the human and the mouse CD4 molecules are highly homologous at both the DNA (70%) and amino acid (54%) levels.

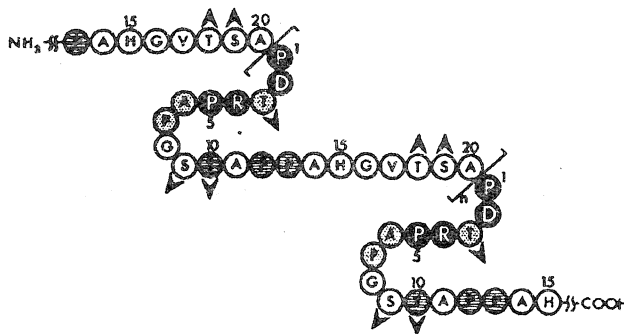
Reference: P.Estess et al. Current Research in Protein Chemistry (Ed.: J.J.Villafranca, Academic Press, San Diego, p. 499 (1990)

Example 3 Localisation of Immunogenic Determinants (Epitopes) of human epithelial mucin glycoprotein, MUC-1 Using synthetic Peptides and MUC-1 specific Antibodies.

MUC-1 :	high molecular weight, MUC-1 gene related glycoprotein, associated with human breast and ovarian carcinoma, primary structure is known .
Antibodies:	mouse monoclonal antibodies recognising MUC-1 glycoprotein [HMFG-1, C595, B55, etc.]
Interaction:	Antibody - antigen interactions.
Aim:	Identification of epitopes recognised by anti-MUC-1 antibodies.

Phase I

1.step	Analysis of the primary structure of MUC-1 glycoprotein. Method: Prediction of B-cell epitopes using various algorithms searching for a) hydrophilic region and b) β -turn secondary structure
--------	---



Diagrammatic representation of the predicted secondary structure of the mucin polypeptide core. Turn tetrapeptides are denoted by chain reversals. The hydrophobicity values for each amino acid, averaged over a window of seven amino acid residues, are represented as follows: (●) ≥ 1.4 ; (○) ≥ 0.7 ; (⊖) ≥ 0.5 ; (⊕) < 0.5 . Arrows indicate potential glycosylation sites.

2.step	Synthesis of overlapping heptapeptide covering the repeat of an antigenic 20 amino acid sequence of MUC-1. Method: Solid phase synthesis of peptides on polyethylene pin support. (Peptides were not removed from the pin during testing.)
3.step	Binding studies with purified MUC-1 specific antibodies on immobilised synthetic overlapping peptides. Method: a. Incubation of peptides with antibody [HMFG-1]. b. Incubation with peroxidase-labelled rabbit anti-mouse Ig.

c. Development of colour reaction by the addition of substrate solution (azino-di-3-ethyl-benzothiazoline-sulphonate) and hydrogen peroxide. Reading of absorbance at 405 nm.

Peptide	¹ PPAHGVSTSAPDTRPAPGSTA ²⁰	ELISA (A ₄₀₅)
1	PPAHGVS	0.00
2	PAHGVST	0.08
3	AHGVSTS	0.04
4	HGVSTSA	0.03
5	GVSTSAP	0.00
6	VSTSAPD	0.02
7	STSAPDT	0.01
8	TSAPDTR	0.73
9	SAPDTRP	0.94
10	APDTRPA	1.09
11	PDTRPAP	0.63
12	DTRPAPG	0.02
13	TRPAPGS	0.08
14	RPAPGST	0.03
15	PAPGSTA	0.03
16	APGSTAP	0.02

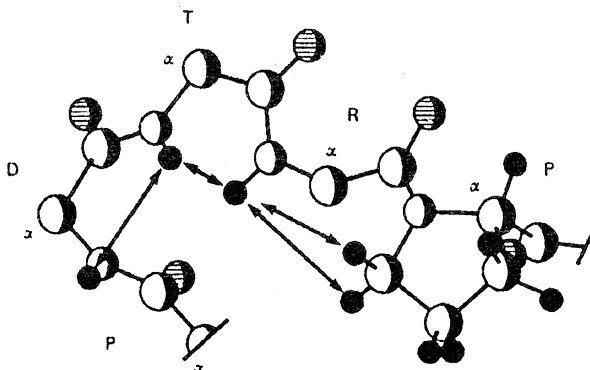
Observation:

Mucin specific MoAb, HMFG-1 binds to heptapeptides containing PDTR sequence.

Phase II

Determination of 3D structure of epitope region containing PDTR sequence.

Methods: 2D NMR (1H HOHAHA)



Reference:

M.R.Price, F.Hudecz et al. Mol.Immunol. 62: 795 (1990)
S.J.B.Tendler Biochem. J. 267: 733 (1990)

Example 4 Location of Membrane-Spanning regions of human intracellular adhesion molecule 1 (ICAM-1).

ICAM-1 :	human intracellular adhesion molecule 1 binds the lymphocyte function associated antigen (LFA-1), promoting cell adhesion in immune and inflammatory reactions. Its primary structure is known.
Interaction:	No.
Aim:	Location of membrane spanning regions.
Method:	Primary sequence analysis in terms of local hydrophobicity.

Background

The simplest analysis of a sequence is a plot of the local hydrophobicity (or hydrophilicity) along the polypeptide chain. There are a variety of different implementation, differing in the *numerical values of the hydrophobicity assigned to the residues* and the *method of smoothing*. Hydrophobicity scales were constructed using (a) the free energy of transfer of amino acids from water to hydrophobic phase (eg. ethanol) [Nozaki and Tanford, 1971]; (b) statistical analysis based on the fraction of each type of residue that found buried in globular proteins [Janin, 1979]; (c) theoretical calculations considering three energetic effects of the transfer of amino acid side chains to a hydrophobic from a hydrophilic phase. These are covering of hydrophobic surface area, H-bond breakage and charge neutralisation [von Heijne, Blomberg, 1979]. A few combined scales were also produced to amalgamate values described above [Kyte and Doolittle, 1982; consensus scale from Eisenberg, 1982 illustrated below].

Table 2 Hydrophobicity scales for amino acid residues*

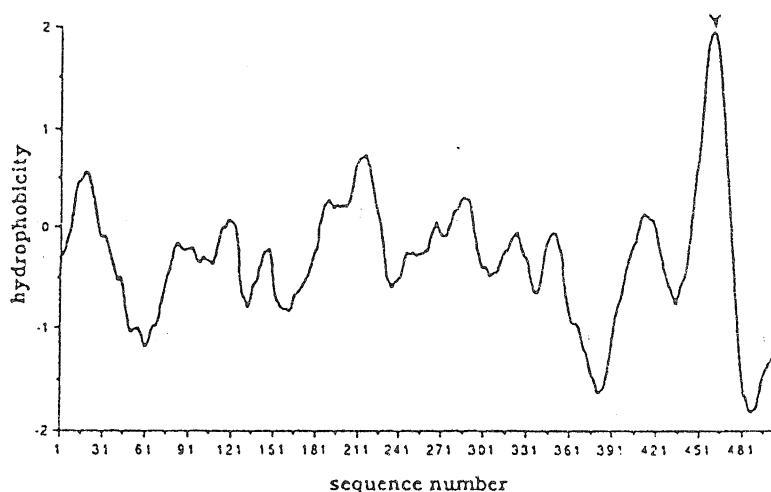
Amino acid	Consensus (67)	von Heijne (66)	Janin (62)	Chothia (63)	Wolfenden (61)	Tanford/Segrest (64, 65)	Kyte (68)	Argos (69)
Ile	0.73	4.4	0.7	0.24	2.15	5.0	4.5	1.67
Phe	0.61	5.2	0.5	0.0	-0.76	5.0	2.8	2.03
Val	0.54	3.9	0.6	0.09	1.99	3.0	4.2	1.14
Leu	0.53	4.2	0.5	-0.12	2.28	3.5	3.8	2.93
Trp	0.37	3.9	0.3	-0.59	-5.88	6.5	-0.9	1.08
Met	0.26	2.1	0.4	-0.24	-1.48	2.5	1.9	2.96
Ala	0.25	2.9	0.3	-0.29	1.94	1.0	1.8	1.56
Gly	0.16	1.9	0.3	-0.34	2.39	0.0	-0.4	0.62
Cys	0.04	-0.08	0.9	0.0	-1.24	0.0	2.5	1.23
Tyr	0.02	3.6	-0.4	-1.02	-6.11	4.5	-1.3	0.68
Pro	-0.07	1.1	-0.3	-0.90	—	1.5	-1.6	0.76
Thr	-0.18	1.2	-0.2	-0.71	-4.88	0.5	-0.7	0.91
Ser	-0.26	0.36	-0.1	-0.75	-5.06	-0.5	-0.8	0.81
His	-0.40	-1.5	-0.1	-0.94	-10.27	1.0	-3.2	0.29
Glu	-0.62	-4.0	-0.7	-0.90	-10.20	—	-3.5	0.23
Asn	-0.64	-1.0	-0.5	-1.18	-9.68	-1.5	-3.5	0.27
Gln	-0.69	-0.52	-0.7	-1.53	-9.38	-1.0	-3.5	0.51
Asp	-0.72	-5.6	-0.6	-1.02	-10.95	—	-3.5	0.14
Lys	-1.1	-2.3	-1.8	-2.05	-9.52	—	-3.9	0.15
Arg	-1.8	-9.4	-1.4	-2.71	-19.92	—	-4.5	0.45

* The order is by decreasing hydrophobicity on the consensus scale. The magnitudes for all but the two scales on the right may be considered roughly in kcal mol⁻¹ for transfer from a hydrophobic to a hydrophilic phase. As discussed in the text, the scales do not all measure the same property.

Two of most popular algorithms are by Kyte and Doolittle, 1982 and Hopp and Woods, 1981. There are two major applications of these plots: (a) the location of membrane-spanning regions, (b) the prediction of exposed loops, including B-cell epitopes.

Typically, membrane spanning regions are 20 or more, mainly hydrophobic, residues that span the non-polar lipid bilayer. Accordingly, the smoothing of residue hydrophobicity typically is over a segment of length 15 residues. These plots generally successful in locating a single transmembrane region in a protein but where the chain crosses the membrane several times the plot can be harder to interpret unambiguously.

Method: Scale of Kyte and Doolittle and the average of 15 residues (window) was used. The approach of Rao and Argos [1982] based on the frequencies of residues within manually assigned non-polar transmembrane regions combined with the frequencies of residues just outside the non-polar region was implemented for smoothing.



Observation: The hydrophobic plot of ICAM-1 averaged over 15 residues clearly shows the most hydrophobic region between residues 436 and 474.

NB.: Several other algorithms have been developed to search for membrane-spanning regions. See references.

Reference: P.A. Bates and M.J.E. Sternberg: in "Protein Engineering, a practical approach" (Ed.: A.R.Rees, M.J.E. Sternberg and R.Wetzel), IRL Press, Oxford, p. 117 (1992)

G.D.Fasman, TIBS, 14: 295 (1989)

D.Eisenberg Ann.Rev.Biochem., 53:595 (1984)

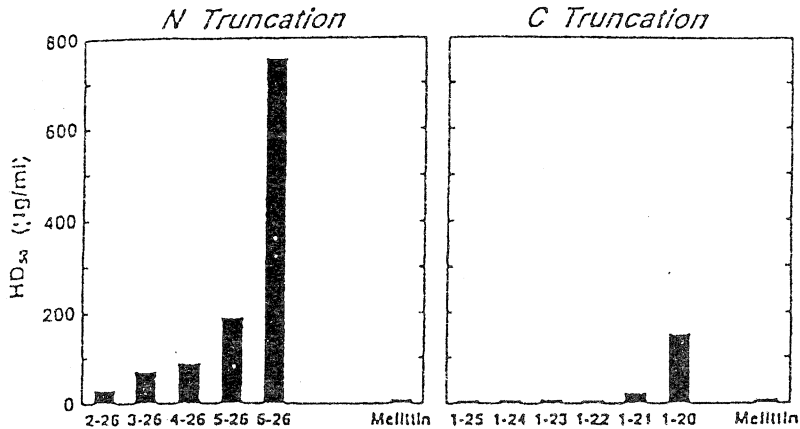
Prediction of Protein structure and principles of protein conformation (Ed.:G.D.Fasman), Plenum Press, New York (1989)

Example 5 Localisation of Domain Responsible for Hemolytic Activity of Melittin.

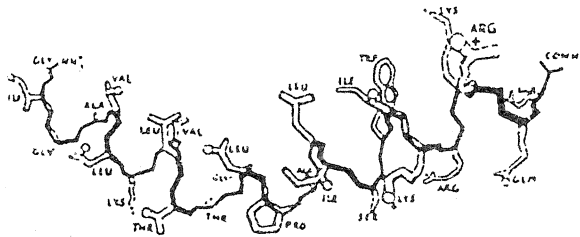
Melittin :	Amphipathic 26-residue peptide with strong cytolytic activity, isolated from bee venom, primary and 3D structure are known.
Target:	Human red blood cells (RBC), 1.8×10^7 binding sites for melittin per erythrocyte with a dissociation constant of 10^{-7} - $3 \times 10^{-8}M$, structure unknown.
Interaction:	Melittin binds rapidly to erythrocytes and induces the release of hemoglobin into the extracellular medium. Major interaction is between melittin and lipid membrane rather than "receptor".
Aim:	Identification of the smallest fragment, which can induce hemolysis at melittin level.
1. step	Synthetic peptide with successive deletions from the amino- and carboxyl-terminal ends were prepared by SPPS.

Residue	Amino acid sequence
Melittin	GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-amide
2-26	IIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-amide
3-26	GAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-amide
4-26	AVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-amide
5-26	VLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-amide
6-26	LKVLTTGLPALISWIKRKRQQ-amide
1-25	GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQ-amide
1-24	GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKR-amide
1-23	GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRK-amide
1-22	GIGAVLKVLTTGLPALISWIKR-amide
1-21	GIGAVLKVLTTGLPALISWIK-amide
1-20	GIGAVLKVLTTGLPALISWI-amide

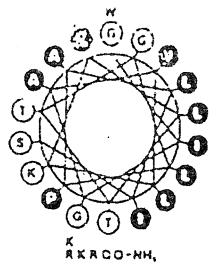
2. step	Binding studies with human red blood cells. Hemolytic assay.
Method:	<ol style="list-style-type: none"> Incubation of peptides at equimolar ratio with washed and counted RBC for 1h at 37°C. Centrifugation. Measurement of absorbance at 414 nm $e=14.7 \times 10^{-4}$.



Observation 1: The critical residues for hemolytic activity of melittin are between amino acid 2 and 22.



The conformation of monomeric subunits of melittin from the crystalline tetramer.



Helical wheel representations of the conformation

Observation 2: The removal of amino acid residues from the N-terminal affect the amphipathic α -helix.

References: C.E. Dempsey, *Biochim.Biophys.Acta* 1031, 143 (1990)
 S.E. Blondelle and R.A.Houghten, *Biochemistry*,30, 4671 (1991)
 S.E. Blondelle and R.A.Houghten in "Innovation and Perspectives in Solid Phase Peptide Synthesis 1992" (Ed.: R.Epton) Intercept, Andover, p.121, 1993

Beszámoló a FEBS 34. Council Meeting-jéről

A tanácsülést a *FEBS Special Meeting: Biological Membranes (Helsinki, 1994. június 26 - július 1)* keretében tartották.

A helsinki Special Meeting-et viszonylag szerény keretek között rendezték (kötségvetés: ~ 1.3 m finn márka ~ 26 mFt), mintegy 700 résztvevővel, ezekből 76 meghívott előadó és 35 fő a helyi szervező; a külföldi résztvevők 44 országból érkeztek. (Az utóbbi szám magas, ám ezt részben a kelet-európai, volt szocialista országok utódállamokra való bomlása okozza.) Hazánkból nyolcan vettek részt a rendezvényen.

A Council Meeting-en tárgyalt főbb pontok:

1) *A FEBS anyagi helyzete.* Ez továbbra is megnyugtató, 1993-ban a netto bevétel: 1.729 eDEM (1992-ben ez 1.191 eDEM volt.) A bevétel döntően a két folyóiratból (FEBS Letters: 2.176 eDEM (!), Eur.J. Biochem.: 709 eDEM (brutto értékek) ill. a banki kamatokból (534 eDEM) származik. Természetesen, a FEBS mint non-profit szervezet a bevételt visszaforgatja az ismert módokon (FEBS ösztöndíjak, Follow-up-Fund, Advanced Course-ok, Bulletin, stb. formájában). A megnövekedett netto bevétel azt jelenti, hogy 1994-95-ben a FEBS többet tud költeni ezen célokra.

2) *A FEBS folyóiratok (FEBS Letters és Eur. J. Biochem.).* A FEBS Letters nagyon jól tartja magát világszerte (különösen az Egyesült Államokban!), ami ismertsége mellett a rövid átfutási (publikációs) időnek tudható be. Az Eur. J. Biochem. enyhén csökkenő előfizető-száma miatt kéri, hogy európai biokémikusok részesítsék előnyben e folyóiratot mind a kéziratok beküldésénél, mind a rendelésnél; az EJB ugyanis erősen megérzi a nagy amerikai folyóiratok elszívó hatását. Mindkét folyóirat "hibája", hogy igen drágák (viszont nem kérnek page-charge-ot). Ezen a FEBS egyelőre nem kíván változtatni. (Nekünk, magyaroknak, mint a FEBS támogatások potenciális élvezőinek jó, ha a szövetség gazdag; érdemes továbbá kihasználni a drága folyóirataikban való közlést, még ha előfizetni rájuk egyre kevésbé is tudunk.)

3) *FEBS Ösztöndíjak.* Mint fentebb jeleztem, ezekre jelenleg több fordítható, mint korábban, *érdemes tehát pályázni.* 1993-ban egy hosszútávú ösztöndíjunk zárult le (Buday László (SOTE I. Kémiai-Biokémiai Intézet), aki munkája alapján Follow-up-Fund-ban is részesült) ill. két rövidtávú valósult meg. Egy rövidtávú FEBS ösztöndíj hazánkra irányult (Oroszországból). Gondoljunk erre, mert ezek a vendégkutatók számára anyagilag igen előnyösek. Véleményem szerint hazánk egyik irányú lehetőségét sem használja ki kellőképpen.

4) Változás a tisztségviselőkből. A FEBS Executive Committee elnöke J. Jarnefelt (Helsinki) lett; Vito Turk-ot (Slovenia) újabb 3 éves ciklusra megválasztottuk főtitkárnak. A három bizottságban (Publications Committee, Fellowship Committee és Advanced Course Committee) jelenleg nincs magyar tag; esetleges ajánlásokat MBKE tagságunk részéről szívesen veszünk.

5) Következő FEBS/IUBMB Kongresszusok:

- 1995: 23rd FEBS Meeting, Basel, augusztus 13-18
 1996: 24th FEBS Meeting, Barcelona, július 7-12
 1997: - FEBS Special Meeting, Amsterdam: Cell Signaling from Membrane to Nucleus
 - IUBMB Congress, San Francisco
 1998: 25th FEBS Meeting, Copenhagen, Július 5-10

6) A Council feltette és tagegyesületei felé továbbítja *azt a kérdést*, hogy milyen módon lehetne a FEBS összejövetelek népszerűségét és hatékonyságát növelni.

Budapest, 1994. október 31.

Friedrich Péter
elnök

Újra Chemexpo!

/Nemzetközi Vegyipari Szakkiállítás 1995. március 28-31./

Évek óta a Budapesti Nemzetközi Vásárcsopontban a vegyipar és a kapcsolódó ágazatok kiállításai az érdeklődés középpontjában álltak.

Ez a tény és az iparágban a gazdasági életben betöltött szerepe tette szükségessé egy önálló bemutatói lehetőséget, a CHEMEXPO megszervezését.

A CHEMEXPO '93, az első önálló bemutató a magyar gazdaságot sújtó általános recesszió ellenére igen sikeres volt. Mindenki számára nyilvánvalóvá vált, hogy a hazai gazdaság előrelépése ill. fellendülése nem képzelhető el jól működő vegyipar nélkül.

A CHEMEXPO ehhez kíván a maga sajátos eszközeivel hozzájárulni.

A CHEMEXPO '93 kiállítás résztvevői szorgalmazták, hogy 1995-ben kerüljön sor újabb bemutatóra, ahol számot adhatnak az elért eredményekről és az újabb fejlesztésekről.

Preisz Ildikót, a CHEMEXPO project managerét kérdezzük az előkészületekről és tervekről.

P.I.: A kiállításszervezés napjainkra igen komoly szakképzettséget, koordinációs készséget igénylő tevékenységgé nőtte ki magát. Míg korábban elegendő volt egy kiállítás tematikáját kitölteni és megfelelő szolgáltatásokkal területeket biztosítani, addig ma - amikor a kiállításokon való részvétel a vállalati marketing kommunikáció fontos része, s így a vállalati jövedelmezőség egyik jelentős alkotója, egy eredményes kiállítás, amely egyaránt jól szolgálja a kiállítók és a szakmai látogatók érdekeit, csak úgy jöhet létre, ha a kiállítás szervezője bizonyos mértékig benne él az adott ágazatban, ismeri szereplőit, fejlődési irányait, sőt belső gondjait is.

Egy minden szempontból eredményes, gazdaságilag és a marketing kommunikáció szempontjából sikeres szakkiállítás megszervezéséhez - szinte egyenrangú partnereként - tudni kell együttműködni az adott gazdasági ágazat szereplőivel.

Úgy érezzük, hogy a második CHEMEXPO megrendezésénél a Hungexpo Rt. INVEST STUDIO-jának szakemberei méltó partnerei az igen szerteágazó vegyiparnak.

T.A.: Hogyan tudják biztosítani, hogy ez az igen sokrétű ágazat minden szegmense képviselve legyen a kiállításon?

P.I.: Elsősorban támaszkodhatunk a hazai vegyipar területét átfogó különböző társaságok,

szövetségek, egyesületek együttműködésére és tevéleges támogatására.

A kiállítást támogatja: A Magyar Vegyipari Szövetség, a CHEMEXPO '95 védnöke, a Magyar Műanyagipari Szövetség, a Magyar Gumiipari Szövetség, a Magyar Gyógyszergyártók és Nagykereskedők Országos Szövetsége, a Magyar Korrozíós Szövetség, a HUNGAROKORR Mérnökiroda Kft és a Magyar Kémikusok Egyesülete. Segítségükkel megkerestünk minden számottevő hazai és külföldi vállalkozást, s már most a kiállítás megnyitása előtt egy fél évvel igen sokan jelentkeztek. Újdonságként elmondható, hogy az érdekelteket és az egész szakmát a tervekről és a kiállítás előkészületeinek alakulásáról a CHEMEXPO hírlevélben is tájékoztatni fogjuk, amelyben a vegyipar fontos lépéseiről is hírt adunk.

T.A.: Kérhetünk-e néhány pontos szám adatot a CHEMEXPO-ról?

P.I.: Az első CHEMEXPO-n 4000 m²-en 256 kiállító mutatkozott be, ebből 155 volt a magyarországi és 101 a külföldi cég. A kiállítást 5000 szakmai látogató kereste fel. A külföldi látogatók /6,8%/ több mint a fele a volt szocialista országokból érkezett. Felmérésünk szerint a szakmai látogatók 75,7%-a valamilyen vállalkozás képviselőjeként a döntéshozók közé tartozott. A felmérés és a kiállítók véleménye alapján megállapítható, hogy a CHEMEXPO a szakkiállítások sorában az egyik leghatékonyabb volt. Kérdőívünk felmérésünk szerint a CHEMEXPO kiállítóinak 70,8%-a, a látogatóknak pedig a 94,8%-a úgy nyilatkozott, hogy a következő kiállításon is részt kíván venni.

T.A.: Emlékeztetőül kérem sorolja fel, melyek azok az ágazatok ahonnan, elsősorban kiállítókat várnak?

P.I.: Ezek a műanyagipar, gumiipar, gyógyszeripar, korrozívvédelem, vegyipari eljárások, technológiák, vegyipari gépek és berendezések, a vegyipari háttérpár, festékipar, ásványolajipar és petrokémia, agrokémia, kutatás és fejlesztés, a kapcsolódó szakirodalom, oktatás, tájékoztatás.

T.A.: Végezetül még néhány konkrét információt kérek, a kiállítani szándékozóknak meddig és hol lehet jelentkezni, ill.kínél lehet tájékoztatást kérni?

Címünk: 1441 Budapest Pf. 44.

A CHEMEXPO szervezője: a HUNGEXPO RT. INVEST Stúdiója

project manager: Preisz Ildikó

Tel.: 263-60-88 telefax: 263-60-86

BESZÁMOLÓ

*Fourth International Conference on Transglutaminases and Protein Crosslinking Reactions
August 28-31 Debrecen*

A transzglutamináz konferenciák szervezését 1987-ben kezdtük el Paul Birckbichler és Peter Davies amerikai kollégákkal. Az eddigi konferenciákat (1987 Miami, 1990 Cannes, 1992 Ardmore), amelyek a transzglutamináz kutatási terület kiteljesedésének idejére estek, az egyre növekvő érdeklődés, a friss információk intenzív cseréje, kellemes környezet, baráti hangulat jellemezte. Elmondható ez az IUBMB, több alapítvány és cég által támogatott debreceni összejövetelről is, amelyen 17 országból közel 130 kolléga vett részt, 49 előadás hangzott el, 42 poszter került bemutatásra.

A megnyitó előadást *Lóránd László* tartotta, aki 1947 (ez az az év amikor Laki Kálmánnal a Science-be publikálták itthonról az alvadék oldhatatlanságát leíró első transzglutamináz vonatkozású kísérletet) óta most járt itthon először. Áttekintő előadása egyszerre adott lehetőséget a tudománytörténeti emlékek felidezésére és az enzimátikus fehérjekeresztkötés újabb módszertani, kutatási távlatainak átgondolására.

Hagyománya a transzglutamináz konferenciáknak olyan előadó felkérése a rendező ország kutatói közül, aki nem dolgozik közvetlenül a transzglutamináz területen de munkássága ahhoz kapcsolódik, azt addig fel nem vetett megvilágításba helyezi. A korábbi konferenciák előadói (Russel Doolittle, Pierre Chambon, Howard Green) után *Patthy László* transzglutaminázok evolúciójáról saját kutatási eredményeinek tükrében tartott előadása is sokáig emlékezetes marad.

Nehéz a 10 szekció előadásai és a poszterek közül kiemelni a legérdekesítőbbeket, legizgalmasabbakat; az alábbi áttekintés a szervező szemüvegén át tesz erre kísérletet.

A "Novel Transglutaminase-related Phenomena" szekcióban *Robert Graham (Sidney)* azokat a Science-ben frissen publikált eredményeit mutatta be, amelyek meggyőzően bizonyítják, hogy az intracelluláris szöveti transzglutamináz olyan bifunkcionális enzim, amely a fehérjekeresztkötő aktivitása mellett GTP-t kötve, G fehérjeként viselkedve receptor szignálutvonalak résztvevője. *Yutaka Nagata (Toyoake City)* kísérletei a NO-közvetített transzglutamináz aktiváció lehetőségét vetették fel a szinaptikus jelátvitel folyamatában. *Matthew Singer (Berkeley)* az annulin-ről, a rovarok morfogenezisének egyik szabályozó molekulájáról derítette ki, hogy az transzglutamináz. *Francesco Facchiano (Chieti)* azt vette fel, hogy a tetanus toxin hatásának egyik magyarázata a szinaptoszómák transzglutaminázának aktiválása.

Az "Extracellular Matrix" témakör előadásai *Mats Paulsson (Bern)* részletes áttekintésével kezdődtek, amelyben a transzglutaminázok matrix szerveződésben betöltött lehetséges szerepét is taglalta, majd több előadás mutatott be ehhez kapcsolódó új eredményeket. A szöveti transzglutamináz, amely eddig ismeretlen mechanizmussal kikerülhet az extracelluláris környezetbe, stabilizálja a kollagén V/XI fibrillumokat (*Jean-Philippe Kleman, Lyon*), résztvesz a porc matrix keresztkötési folyamatokban oszteonektint használva elsődleges szubsztrátként (*David Aeschlimann, Bern*), expresszióját a csontosodási folyamatban szerepet játszó preosteoblastokban retinoidok szabályozzák (*Vilmos Thomazy, Houston*). *Michael Bowness (Winnipeg)* Benkő és Laki negyedszázada leírt hipotézisét támasztotta alá transzglutamináz-katalizálta fehérjekeresztkötések kimutatásával arterioszklerózisos érfal preparátumokban.

Több új transzglutamináz került bemutatásra a "Novel Transglutaminases" szekcióban, így a *Brugia malayi* nematódából (*Kapli Mehta, Houston*), növényekből (*Donatella Serafini-Fracassini, Bologna*), prosztatából (*Rafaele Porta és Vittorio Gentile, Naples; Sang Chul Park, Seoul*).

A konferencia egyik legizgalmasabb szekciójának a "Structure, Synthesis and Secretion of

FXIII" bizonyult. *Viven Yee (Seattle)* Teller laboratóriumából bemutatta az első transzglutamináz 3D kristályszerkezeteket beszámolva a XIII. alvadási faktor "a" alegységével, annak dimerjével és a Ca-trombin aktiválta formával kapott igen izgalmas eredményeiről. *Hanna Mikola (Helsinki)* XIII faktor hiányos betegek molekuláris defektusait már a kristályszerkezet tükrében mutathatta be. *Jane McDonagh (Boston)* és *Ádány Róza (Debrecen)* eredményei végleges választ adhatnak arra az eddig megválaszolatlan kérdésre, hogy hol szintetizálódik a plazma transzglutamináz; úgy tűnik, hogy a szintézisi helye a májban van, ahol több sejttípus képes "a" alegységet szintetizálni. Változatlanul nyitott kérdés azonban, hogyan szekretálódik a XIII faktor "a" alegysége és a sok más "leaderless" szekréciós fehérje (*Anna Rubartelli, Milano*).

A transzglutamináz gének szabályozását taglaló előadások azt mutatták, hogy a gének, beleértve a transzglutamináz szubsztrátok génjét, promoter régiójáról egyre többet tudunk. *Peter Davies és Nagy László (Houston)* komplex retinoid elemekről számolt be a szöveti transzglutamináz, *Anton Jetten (Research Triangle Park)* a keratinocita transzglutamináz és annak egyik szubsztrája génregulációjában. A hummán involukrin (szubsztrát fehérje) promoter transzgen egérkísérleteket is igénybe vevő analízise új szabályozó mechanizmusokat vetett fel (*Richard Eckert, Cleveland; Joseph Carroll, London*).

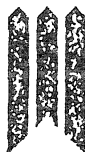
A transzglutaminázok aktivációjának mechanizmusai változatlanul a kutatások középpontjában állnak: *Musztek László (Debrecen)* a thrombocita, *Paul Bishop (Seattle)* a plazma XIII "a" alegység aktiválódásában talált új elemeket, *Rainer Seitz (Marburg)* és *Martin Griffin (Nottingham)* a malignus sejtek proliferációja, metasztázisa kapcsán vetett fel új lehetőségeket.

Erre a konferenciára értek be a transzglutaminázok neurobiológiai, neuropathológiai jenetőségét vizsgáló kutatások. *Michal Schwartz (Rehovot)* részben a Science-ben idén publikált adatai alapján vetette fel, hogy a transzglutaminázoknak meghatározó szerepe lehet a neuronok regenerációjában. *Laurie Haynes (Bristol)* a cerebelláris kortex embrionális fejlődésében, *Koji Ikura (Kyoto)* az Alzheimer kórhoz kapcsolódó fehérje polimerek kialakulásában, *Friedrich Péter* a neuronális plaszticitás és a memória formálódásában vetette fel transzglutaminázok szerepét, *Ariel Loewy (Haverford)* az agyban lejátszódó kovalens fehérjepolimerizáció megfordíthatóságáról beszélt.

A transzglutaminázok glutamin és lizin szubsztrátspecifitását meghatározó szekvencia és szerkezeti elemek vizsgálatáról többen tartottak előadást (*Wilfried de Jong, Nijmegen; Simone Beninati, Rome; Poul Jensen, Aarhus*); úgy tűnik elsősorban nem a környező aminosavak jellege, hanem a Lys és Gln oldalláncok topográfiai elhelyezkedése a döntő. Nagy vitát váltott ki *Isolda Baskova (Moscow)* előadása, amelyben a piócából átalata izolált "destabiláz" fehérjék transzglutaminázok által létrehozott keresztkötéseit bontó aktivitásáról számolt be.

A konferencia két befejező szekciója a transzglutaminázok két hasonló sejthalálformában (Kornifikáció, Apoptózis) játszott szerepével foglalkozott. *Peter Steinert (Bethesda)* a "cornified envelope" kialakulásának molekuláris részleteit írta le, *Joost Schalkwijk (Nijmegen)* epidermális proteináz inhibitorok szerepével foglalkozott, *Scott Thacher (Irvine)* és *Renata Polakowska (Rochester)* az elhaló keratinociták transzglutaminázának Ca-szabályozását vizsgálta, *Paul Birckbichler (Oklahoma City)* új apoptózis-transzglutamináz összefüggéseket tárt fel, *Mauro Piacentini (Rome)* antiszensz kísérleteikről és a transzglutamináz új fehérjeinhibitoráról számolt be, *In-Gyu-Kim (Inchon)* újonnan leírt transzglutamináz sejthalált kiváltó hatásáról beszélt, befejezésül debreceni munkacsoportom legfrissebb apoptózis eredményeiről és azok diagnosztikus, klinikai jelentőségéről tartott előadásom következett.

Northwestern University Medical School



Department of Cell and
Molecular Biology

Searle Building 4-555
303 East Chicago Avenue
Chicago, Illinois 60611-3008
(312) 503-0591
Fax (312) 503-0590

Laszlo Lorand
Research Professor

Distinguished Investigator
Feinberg Cardiovascular Research
Institute

November 4, 1994

Dr. Daniel Bagdy
Hungarian Biochemical Society
Budapest, Karolina ut 29
H-1113, Hungary

Dear Dani:

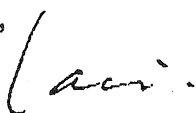
It is a pleasure to respond to your request to briefly summarize my impressions from the recent meeting in Debrecen on *Transglutaminases and Protein Crosslinking Reactions*, August 28-31, 1994. I would like to state at the outset that both regarding organization and in terms of scientific content, this was a superb meeting and I learnt a great deal.

Essentially, I attended all the lectures -- except when I occasionally sneaked out for a cup of espresso -- for fear of missing out on some report of a novel discovery like the one by John Graham of Sydney, Australia on a transglutaminase homologue he found in the G protein complex, or that by Michal Schwartz of Rehovot, Israel, regarding the dimerization of interleukin 2 by transglutaminase to allow nerve regeneration to occur. The above examples highlight the wide ranging significance in this rapidly developing field, but I could have easily quoted in addition a number of other outstanding contributions to this meeting.

For me it was a particular pleasure to witness the blossoming of the "Debrecen school of transglutaminase research" with Muszbek and Fesus as senior and leading members. It was gratifying to see that they, with their younger colleagues, represent an internationally well recognized and highly regarded center of excellence.

I am sure that most of the credit for organizing the meeting goes to Laszlo and Eva Fesus who handled it efficiently, with great elegance and charm.

Sincerely,





XVII IUBMB INDIA

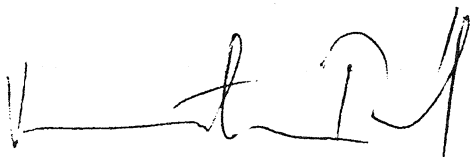
16th INTERNATIONAL CONGRESS OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY

NEW DELHI, INDIA
SEPTEMBER 19-22, 1994

Biokémikus Világkongresszus Indiában

A Nemzetközi Biokémiai és Molekuláris Biológiai Unió (IUBMB) súlyt helyez arra, hogy a három évenként tartandó világkongresszusait ne csak Európában vagy Amerikában rendezze, reprezentálandó, hogy valóban a világ (nem csak fejlett világ!) biokémikusait összefogó szervezet. E tény ismeretében is sokan szkepszissel fogadták a döntést, hogy Új-Delhi kapja az 1994-es világkongresszus rendezésének jogát. Az előjelek nem voltak biztatóak, a szervezés bizony akadozva indult. Nehéz volt időben válaszokat kapni a rendezőktől, hiányos volt a propaganda, stb. Maga a kongresszus azonban rációzott az aggodalmakra és egészében véve jól sikerült. A szervezők rendkívül gazdag programot állítottak össze és ez többé-kevésbé meg is valósult, a meghívott előadók nagyrészt megjelentek és számos kitűnő előadást hallgathattunk. A részvétel természetesen jóval kisebb volt, mint Európában lett volna és a kb 2000 jelenlévőnek alig egyharmada jött külföldről. Ez a tény főleg a poszter szekciókra nyomta rá bélyegét, ahol óriási volt az indiai túlsúly. A helyi szervezés megfelelőnek bizonyult, a helyszínül szolgáló két egymás mellett lévő óriás szálloda nagyszámú, természetesen légkondicionált.

megfelelő méretű előadóteremmel minden igényt kielégített. Minden rendezvény, tehát a poszterek és a szakkiállítás is itt kapott helyet. Azoknak a szerencséseknek, akik e szállodák valamelyikében kaptak szobát, öt napig ki se kellett mozdulniuk. Természetesen a legszorgalmasabb előadáshallgató is csak a kis töredékét tudja befogadni egy ilyen világkongresszusnak, az eseményekről beszámolni így szinte lehetetlen. Csak felsorolom tehát, hogy 6 plenáris előadásra került sor, minden nap ezzel kezdődött és végződött a program, 75 szimpózium, 3 kollokvium és természetesen sokszáz poszter zúdult a résztvevőkre. A 6 plenáris előadó: Inder M. Verma, Tadatsugu Taniguchi, Edwin G. Krebs (Nobel díjas), Margarita Salas, Nam-Hai Chua és Robert Huber (Nobel díjas). A magyar részvétel ezúttal elég alacsony volt, ki kell azonban emelni, hogy két honfitársunk volt meghívott előadó: Kondorosi Ádám, aki az utóbbi évtized szinte minden európai és világkongresszusának szereplője és Fésűs László, aki nemcsak előadott, hanem az apoptózis szimpózium szervezője is volt. A tudományos programról talán azt érdemes még elmondani, hogy tükrözte a házigazdák specifikus érdeklődési területeit, így a szokásosnál nagyobb hangsúlyt kapott a trópusi betegségek biokémiája, az enterikus betegségek, a születésszabályozás biokémiája, a növényi biotechnológia és a fejlődő országok tudományának és felsőoktatásának sajátos problémái. Természetesen az előadók között nagy számban szerepeltek a fejlett országokban, elsősorban az USA-ban élő és alkotó indiai tudósok. A szakmai program mellett megismerkedhettünk az indiai kultúra és civilizáció számos vonzó és kevésbé vonzó vonásával (ez utóbbiak közé tartozik pl. a pestis, ami éppen a kongresszus utolsó napján tört ki). Az ünnepi fogadás után gyönyörű indiai táncbemutatót élvezhettünk. A sokszínű és változatos indiai konyhaművészet megismerése kötelező volt, hiszen a részvétellel járó ebéd kizárólag indiai ételeket kínált és a szálloda öt étterme is kizárólag ázsiai stílusú ételekkel tudott szolgálni. A kongresszus záróülésén San Francisco képviselői invitáltak a három év múlva városukban rendezendő legközelebbi világkongresszusra.



Venetianer Pál

International Union of Biochemistry and Molecular Biology

15th Ordinary General Assembly (New Delhi, 1994. September 21)

A 60 tagország megjelent delegátusai, a kapcsolódó (Federation of Asian and Oceanian Biochemistry and Molecular Biology, International Organization of Free Radical Research, International Federation of Clinical Chemists, International Society of Neurochemistry, Panamerican Association of Biochemical Societies) és megfigyelői státusszal (FEBS) rendelkező szervezetek delegátusai valamint a szervezet bizottságainak meghívott tagjai a 16. IUBMB kongresszus egyik délutánján ülészetek.

Az ülést a leköszönő elnök, Hans Kornberg vezette. A lebonyolított választások eredményeként az Executive Committee 1997-ig a következő összetételben működik: Kunio Jagi (Japan, President); Bengt Samuelsson (Sweden, President Elect); Horst Kleinkauf (Germany, General Secretary); Anthony Linnane (Australia, Treasurer); William Lennarz (USA, Liaison Member for IUBMB Congresses and Conferences); Arnost Kotyk (Czech Republic, Liaison Member for ICSU Activities); R. Bradshaw (United Kingdom, Publications); Brian Clark (Denmark, Symposia and Interest Groups); Leopold de Meis (Argentina, Education). Megválasztottuk a Jelölőbizottságot is: Kunio Yagi, Bengt Samuelsson, Horst Kleinkauf az Executive Committee részéről, Masamitsu Futai (Japan), Marianne Grunberg-Manago (France), Betty Sue Masters (USA), Karel van Dam (The Netherlands) a delegátusok részéről. A jelölőbizottság feladata President Elect, General Secretary, Treasurer, valamint négy új Executive Committee tag (Kothyk, Bradshaw, Clark és de Meis helyére, akik közül Kothyk kivételével mindenki újraválasztható) jelölése az 1997. évi General Assembly-re. - Meggondolandó lehetőség ez arra, hogy a hazai biokémia jelöltet állítson, elsősorban Kothyk megüresedő helyére!

Az IUBMB folyóiratai (TIBS, Biochemical Education, Biochemistry and Molecular Biology International, The Journal of Biotechnology and Applied Biochemistry, BioFactors, Enzyme Nomenclature) az IUBMB összevételének (ami évente kb. 400 ezer USD) jelenleg megközelítőleg 41 %-át "termelik". Az ülésen vita alakult ki arról, hogy a kiadókkal kötött szerződések megfelelően szolgálják-e az IUBMB érdekeit; elsősorban a TIBS vonatkozásában tűnik kedvezőtlennek a jelenlegi szerződés. A Publication Committee új kiadványsorozatot is elindított különböző témaköröket áttekintő kötetek formájában; az első kettő (Signal Transduction - volume editor Carl Heldin from Uppsala; Transcription - volume editor Diane Hawley from Eugene, Oregon) rövidesen megjelenik.

A Szimpózium Bizottság költségvetése a legnagyobb az IUBMB-n belül, jelentős számú konferenciát támogatnak évente. - Gyakrabban kellene a hazai konferenciáknak is élni ezzel a támogatási lehetőséggel! A támogatás feltételeiről, a pályázat módjáról szívesen átadom a rendelkezésemre álló tapasztalatokat és információt. - Ugyanez a bizottság működteti az "Interest Group"-okat (Gene Structure and Function including Protein Synthesis, Nucleic Acids and Biochemistry of Disease - chaired by Brian Clark; Cellular and Developmental Biochemistry including Immunology - David Glover; Biotechnology including Protein Chemistry and Engineering - Dale Oxender; Enzymology - Keith Tipton; Metabolism including Metabolic Regulation and Hormone Control - Alex Levitzki; Membranes including Receptors, Transport,

Neurobiology and Signal Transduction - Ernesto Carafoli; Bioenergetics and Redox Systems including Flavoproteins, Cytochrome p450, Photosynthesis and Free radicals - Robert Gennis; Bioorganic Chemistry including Carbohydrates and Lipids - J.F.G. Vliegthart; Biophysical Chemistry including X Ray Crystallography, NMR, EPR and Mass Spec.), amelyek a biokémia részterületein szerveznek, támogatnak konferenciákat.

Az Oktatási Bizottság az elmúlt években jelentős aktivitást fejtett ki workshop-ok, tanfolyamok szervezésével és támogatásával, ingyen tankönyvek és folyóirat előfizetések biztosításával. - Korábban a hazai tanszékekre is jutott ezekből; a Biochemical Education térítésmentes példányainak számát csökkenteniük kellett, emiatt szűnt meg a korábbi ingyenes példányok érkezése hazánkba. Sikerült elérnünk, hogy a negyedévente megjelenő folyóirat 1 példánya a bizottság ajándékként újra rendszeresen érkezik a DOTE Biokémiai Intézetébe. Ezek tartalomjegyzékét a Biokémiában minden alkalommal közzétesszük és kérésre egy-egy cikkről másolatot küldünk a hazai tanszékeknek.

A következő IUBMB kongresszus helyszíne San Francisco (1997 augusztus 24-29 - közös szervezésben az American Society for Biochemistry and Molecular Biology-val), azt követően a 2000-ben megrendezendő kongresszus Birmingham-ben (UK) lesz. Az Exetutive Committee "IUBMB Conferences" rendezvénysorozatot is elindított; ezen szűkebb témakörű konferenciák sikeresek voltak (Nagoya, Bari), illetve sikeresnek ígérkeznek (Molecular Recognition - Singapore, 1995 április 23-27; Life and Death of Cell - Edinburgh UK, 1996 július 14-17, közös szervezésben a Biochemical Society-vel).

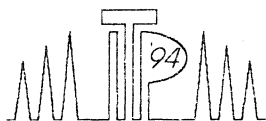
Az IUBMB Nomenclature Committee és a Joint Committee on Biochemical Nomenclature rendszeres üléseken tesz javaslatokat, illetve publikálja ajánlásait (pl. az Enzyme Nomenclature 6. kiadása 1993-ben). A bizottságot az ülésen Venetianer Pál tagtársunk képviselte.

A költségvetés áttekintése kapcsán (amelyben a bevétel oldal második legnagyobb tétele - 38% - a tagdíj, ami esetünkben évi 800 USD, a kiadás oldalon a konferenciatámogatás mögött az oktatási programok finanszírozása jelentős) többen kifogásolták az IUBMB magas adminisztratív költségeit, illetve bizonyos ösztöndíjalapok csökkenését. Általános volt a vélekedés, hogy rendkívül fontos stabilizálni az IUBMB meglehetősen labilis pénzügyi alapjait; ezt a hivatalba lépő új elnök, Kunio Yagi, egyik elsődeleges feladatának tekinti.

Tapasztalataim alapján elmondható, hogy érdemes hazánk IUBMB tagsága adta lehetőségekre jobban odafigyelnünk, illetve a szervezethez való viszonyunkat egyértelművé tennünk. Az utóbbi kapcsán világos, hogy Magyarországot az IUBMB-ben az MTA képviseli (és fizeti a tagdíjat), így talán az MTA Biológiai Osztályának Biokémiai és Molekuláris Biológiai Bizottsága tarthatná a folyamatos kapcsolatot biztosítva, hogy a delegáltak megjeleníthessék mind az MTA mind az MBE érdekeit.

Fésüs László

DOTÉ Biokémiai Intézet



BUDAPEST, OCTOBER 3-7, 1994

9. NEMZETKÖZI KAPILLÁRIS ELEKTROFORÉZIS SZIMPÓZIUM

Ezt a beszámolót a szimpóziium jelképének magyarázatával kell kezdenem.

ITP'94 - annak a szimpóziium-sorozatnak a folytatása, amelyik 1979-ben kezdődött el, és amely 1980 óta kétévenként egy-egy európai városban került megrendezésre (Baconfy, 1979, Eindhoven: 1980, Goslar: 1982, Hradec Kralove: 1984, Maastricht: 1986, Vienna: 1988, Tátra-Lomnic: 1990, Róma: 1992). A legelső szimpóziium megszervezését az akkor már 'felnőttkorába' lépő izotachoforézis technika európai művelői határozták el - International Symposium on Isotachophoresis - röviden 'ITP szimpóziium' névvel. Az első szimpóziiumok valóban csak izotachoforézis témakörében tevékenykedőket hozták össze, de ahogy a többi kapilláris elektroforézis technika - zóna elektroforézis, izoelektromos fókuszálás, kapilláris géll-elektroforézis, micelláris elektrokinetikus kromatográfia - fejlődött, a szimpóziium jellege és tartalma átalakult. S bár a 'logo' mindmáig megmaradt (... , ITP'92, ITP'94) a kétévenként megrendezett szimpóziium a kapilláris elektroforézissel foglalkozó, elsősorban európai, kutatók tudományos fórumává vált.

Magyarországon eddig csak néhány kutatócsoport foglalkozott és foglalkozik intenzíven kapilláris elektroforézissel, ezért megtiszteltetésnek kell tekinteni, hogy 1994-ben Budapesten rendezhettük meg ezt a rangos szakmai eseményt. A hagyományos gyakorlat alapján elsősorban európai résztvevőket üdvözölhettünk, de a szimpóziium megbecsülését jelzi, hogy számos kutató érkezett más földrészekről is. (133-an 19 európai országból, hatan az Amerikai Egyesült Államokból, 1 fő Kanadából és 4-en Japánból jöttek.) Meg kell jegyezni, hogy hasonló regionális jelleggel Amerikában két szimpóziiumot szerveznek évente, és a kapilláris elektroforézissel foglalkozók 'world-meeting'-jeként a 1989 óta évente január végén - február elején megrendezett HPCE (High Performance Capillary Electrophoresis) szimpóziiumokat tartják (HPCE'94: San Diego, HPCE'95: Würzburg).

Az ITP'92-n (Rómában) bevezetett gyakorlat szerint a szimpóziiumot egy tanfolyam előzte meg, amely ott egynapos, Budapesten kétnapos volt. A délelőttök folyamán meghívott előadók tartottak elméleti összefoglalást, délutánonként pedig a kiállító cégek, saját előadóik részvételével a készülékeket működő állapotban, kísérletekkel mutatták be a hallgatóknak. Bár a kurzus előadói a nemzetközi élvonalba tartozó kutatók voltak, és az összes kapilláris elektroforézis készüléket gyártó cég bemutatta készülékét, sajnálatos módon az előzetesen várt érdeklődés a magyar hallgatók részéről elmaradt (összesen 41 regisztrált résztvevő, melyből 2 törökországi, egy orosz és egy spanyol kutató). Egy kicsit furcsállom, hogy egy ilyen, az alapoktól a legújabb eredményekig mindent bemutató tanfolyamra csak néhány olyan magyarországi cégtől jelentek meg érdeklődők, amelyek pedig analitikai módszereket alkalmaznak, és a magyarországi egyetemekről is csak néhányan jöttek el. Különösen sajnálatosnak tartom, hogy a klinikai kémiai intézetekből, a rutin laboratóriumokból csak egy-két résztvevőt üdvözölhettünk. Ez annál is inkább érthetetlen, mert a részvételi díj nagyon alacsony volt (ha a Phare Accord program nem támogatta volna a tanfolyamot, akkor a befolyt részvételi díjakból még a meghívott előadók szállás-költsége sem lett volna fedezhető). Külön köszönet illeti a hét bemutató gyártó céget (névsorban: Beckman - BLS, BioRad, Hewlett Packard, Perkin Elmer, Thermo Separation Products - Fisons, Unicam, Waters) akik fáradtságot és egyéb támogatást nem kímélve nagyon magas színvonalú gyakorlati oktatást biztosítottak.

A tanfolyam után azonnal kezdődő szimpóziumon összesen 39 előadás hangzott el, amelyek közül 17 meghívott, a többi a *Scientific Committee* által kiválasztott előadás volt. A poszter-szekcióban 53 poszter bemutatására került sor.

A szimpózium megnyitó (keynote) előadását B.L. Karger professzor (USA) tartotta *Capillary Electrophoresis: Quo vadit* címmel nagy érdeklődés mellett. Karger professzor a elindítója és fővédnöke a fentebb említett HPCE konferenciáknak. Ezt követően a micelláris elektrokinetikus kromatográfia legújabb eredményeiről hallhattunk S. Terabe professzortól (Japán) aki 1985-ben a technikát bevezette a kapilláris elektroforézis-módszerek sorába. Ezután az izotachoforézis és az izoelektromos fókuszálás mai eredményeit bemutató előadások következtek, így például P. Boček professzor (Csehország) *On-line ITP-CZE*, valamint T. Hirokawa professzor (Japán) *Bidirectional isotachopheresis* című előadásai. Külön szekció foglalkozott a királis vegyületek elválasztásának lehetőségeivel. Nagy érdeklődés kísérte a biopolimerek (elsősorban DNS-ek) elválasztásának és analizisének legújabb eredményeit, P.G. Righetti professzor (Olaszország) *Separation of PCR-amplified DNA fragments* és K.Klepárník (Csehország) *Capillary electrophoresis of genomic DNA* című előadásai izgalmasan új eredményeket mutattak be. Nagy érdeklődés előzte meg Stellan Hjertén professzor (Svédország) előadását, aki az egyik úttörője volt a kapilláris elektroforézis technikának. Külön szekcióban hangzottak el a kapilláris elektroforézis metodikai és elméleti háttérével, valamint különböző területeken történő felhasználásával foglalkozó előadások. Ezek közül kiemelném egy új kapilláris-fal borítási (coating) kidolgozását M. Chiari (Olaszország) által, a klinikai rutin-gyakorlatban élen járó berni laboratóriumból W. Thormann professzor előadását *Drug of abuse screening and confirmation in human urine*, és N.A. Guzman professzor (USA) beszámolóját *Determination of blood constituents by microdialysis and capillary electrophoresis* címmel. Nagy örömmel szolgált, hogy Horváth Csaba professzor (USA) elfogadta a szimpózium záró előadásának megtartására szóló meghívást és így *The place of capillary electrophoresis in analytical separation* címmel mintegy keretet adott a szimpóziumnak.

A bemutatott poszterek nagy száma azt jelezte, hogy a kapilláris elektroforézis ma még mindig a felívelő szakaszban van, mert a sűrűn megrendezett kapilláris elektroforézis konferenciákon egy laboratórium akár több munkával is részt tud venni. A témakörök kapcsolódtak a főbb szekciók témaköreikhez, elsősorban a technika analitikai felhasználása, valamint metodikai fejlesztése területén.

Magyar résztvevők a szimpóziumon összesen mintegy 10 poszterrel és négy előadással szerepeltek, ami a hazai kevés számú kapilláris elektroforézissel foglalkozó kutatóhelyet tekintve igen szép részvételnek számít.

A kisebb zökkenők ellenére, amelyek minden konferencián - Murphy törvényei alapján - szükségszerűen jelen vannak, a szimpózium hangulata nagyon jó volt. A HPCE'95 konferencia időbeli és térbeli közelsége sem nagyon látszott meg a részvételen, bár a volt kelet-európai országok kutatói még mindig nagy nehézségek árán tudtak eljönni (természetesen anyagi okok miatt).

A kiállító gyártó cégek bemutatták a legmodernebb készülékeket, ezzel is emelve a szakmai színvonalat. Itt még egyszer köszönettel tartozunk a fentebb felsorolt cégek támogatásáért.

A tervek szerint a következő ITP szimpózium 1996-ban Prágában lesz.

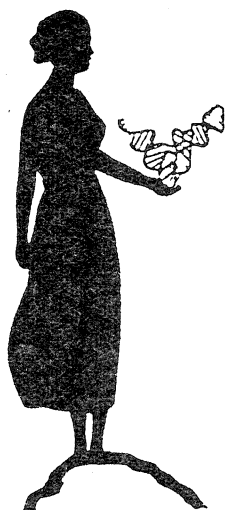
HB94

BESZÁMOLÓ

A HORVÁT BIOKÉMIKUSOK
MÁSODIK TALÁLKOZÓJÁRÓL

OPATIJA

1994. OKTÓBER 14-15



A Horvát állam függetlenné válásának egyik következménye az önálló Horvát Biokémiai Társaság megalakulása. A Társaság története 1978-ig vezethető vissza, amikor a Horvát Kémiai Társaság Biokémiai szekciója létrehozta a Jugoszláv Biokémiai Társaságok Uniójának kerete között működő szervezetét. A Horvát Biokémiai Társaság 1991-ben kilépett az Unióból és 1992-től a FEBS és IUBMB önálló tagjaként működik. A Társaság lapja "Informacije" címen félévenként jelenik meg és évente szerveznek országos találkozót. Az elsőt 1993-ban Zágrádban rendezték, a második találkozóra az Adria parti üdülőhelyen, Opatijában került sor.

A szervezés feladatát Jadranka Varljen irányításával a Rijekai Csoport vállalta magára. A szervező bizottság döntő többsége hölgyekből verbuválódott, ami a segítőkész, kedves vendéglátás mellett a találkozó szimbólumában is kifejezésre jutott. Az alapötletet nyilvánvalóan az előadások színhelyétől, a patinás Kvarner Hoteltől alig 100 méterre álló szobor adta (jobb oldali ábra). A nőalak azonban a postagalamb helyett egy tRNS modellt tart a kezében (bal oldali ábra). Így az alak nemcsak a várost, hanem a szervezőket is jelképezi!

A találkozó területi alapon jött létre, a Horvátországban és a szomszédos országokban dolgozó biokémikusok (tudományos kutatási területüktől függetlenül) kaptak meghívást. Zeljko Kucan (a Társaság elnöke) megnyitójából megtudtuk, hogy a 220 fős Társaságból 120-an jelentkeztek, és a külföldi meghívottakkal együtt 146 előadás, ill. poszter szerzőt regisztráltak. A szerzők szabadon választhattak a horvát vagy angol nyelv használata között. A résztvevők jó nyelvtudását igazolja, hogy a 17 előadásból 12, és az 53 poszterből 39 angol nyelven került bemutatásra. Ettől függetlenül az összes kivonat angol nyelven jelent meg a gondosan kivitelezett programfüzetben. Mind a külföldi előadók meghívása, mind az angol nyelv széleskörű használata azt mutatta, hogy a horvát biokémikusok nagy jelentőséget tulajdonítanak a nemzetközi kapcsolatok ápolásának.

Az előadások két napon keresztül követték egymást, úgy, hogy a hosszabb plenáris előadások a szekciók elején, ill. végén hangoztak el a következő sorrendben:

- Friedrich Paltauf (Graz): Stereoselectivity of microbial lipases
 Viktor Dombrádi (Debrecen): Biochemistry and molecular biology of type 1 Ser/Thr protein phosphatases of *Drosophila melanogaster*
 Franc Gubensek (Ljubljana): Evolution of toxic phospholipase A₂ homologues from the ancestral gene of the non-toxic enzyme in *vipera ammodytes*
 Davor Juretic (Split): Structural and kinetic models for membrane ion pumps
 Gian Luigi Sottocasa (Triest): The transport of unconjugated bilirubin and functional analogues at the level of sinusoidal plasma membrane of liver
 Zeljko Trgovcevic (Zagreb): RecBCDD enzyme: genetic approach of a biochemical problem
 Hildebert Wagner (München): Immunostimulants of plant origin (recent results)

Sajnos Z., Trgovcevic nem tudott eljönni, így előadását egyik munkatársa horvátul tartotta meg. D. Juretic az eredeti címtől eltérve, elsősorban a membrán fehérjék szekvenciából megjósolható másodlagos szerkezetéről beszélt. Elméleti munkásságával megérdemelten nyerte el az év legjobb horvát biokémikusa címet.

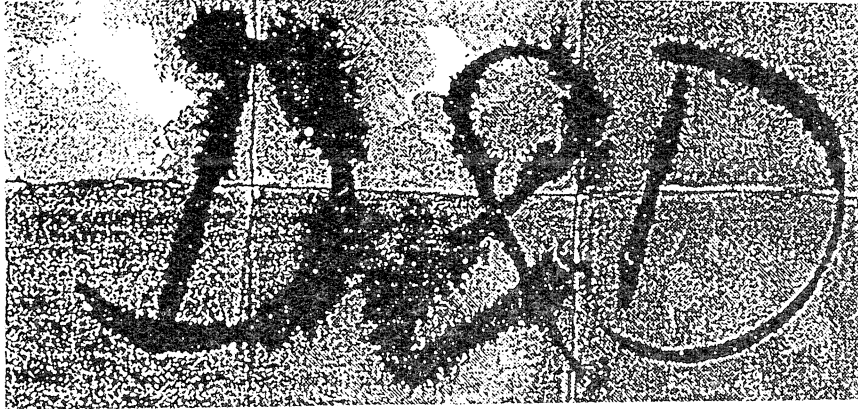
A rövidebb előadásokban fiatal kutatók ismertették saját eredményeiket, míg a tapasztaltabb kutatók az elnöki teendőket látták el. A legjobb előadást Ivana Weygard-Durasevic (Zabreb) tartotta a tRNS szintetázok szubsztrátfelismeréséről (ami ismételen a logo találó megválasztását jutatta eszembe).

A poszterek közül Vito Turk (Ljubljana) munkacsoportjának a katepszinek szerkezetét és funkcióját bemutató sorozata tetszett a legjobban. Néhány poszter és előadás anyaga arról árulkodott, hogy gazdasági nehézségek miatt a kisebb csoportok csak szerény eredményeket tudtak elérni. Személyes beszélgetések is megerősítették, hogy a horvát kollégák legégetőbb problémája az anyagi támogatás szűkös volta, ehhez járul az egyetemen dolgozók jelentős oktatási kötelezettsége. Reméljük, hogy a háborús fenyegetettség elmúltával a tudományos támogatás rendszere is visszatér a normális kerékvágásba, és a horvát biokémikusok munkájukat még magasabb színvonalon és nagyobb eredménnyel fogják végezni. Erre az általam megismert résztvevők tehetsége és tudományos elkötelezettsége a biztosíték.

Dombrádi Viktor

DOE Orvosi Vegytani Intézet

cell Death and Differentiation



The journal with a particular interest in:

- programmed cell death, apoptosis
- differentiation and its control
- the developmental relationship between death, growth and differentiation
- death induced by toxic agents

Cell Death and Differentiation (D&D) will publish original papers and reviews on cell death in eukaryotic models and differentiation of the skin, and the neural, haematological, immunological and endocrine systems.

The first issue (July 1994) includes contributions by: J.A. Cidlowski, T.G. Cotter, A. Eastman, L. Fesus, D.E. Godar, U. Hibner, R.R. Polakowska, C.J. Thiele, J. Tschopp, and E. Yonish-Rouach.

For a free sample copy and subscription details please contact:
Damian Conlin at *Edward Arnold*,
338 Euston Road, London NW1 3BH, UK.
Tel: +44 71 873 6357; Fax: +44 71 873 6325

A szerkesztőség tagja:
Fésüs László

Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis

Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis is the new international, multidisciplinary, and professionally refereed journal reporting original results in all clinical and applied aspects of thrombosis, thrombolysis, and hemorrhagic disorders, including abnormalities of the vasculature. The journal is an invaluable source of information for any individual involved in the clinical or laboratory management of thrombohemorrhagic or fibrinolytic disorders, and those interested in the pharmaceutical or *in vitro* diagnostic aspects of thrombosis, hemorrhage, or thrombolysis.

The journal will regularly publish the latest results of new clinical trials and studies as well as information on new laboratory and radiographic methodologies that are particularly applicable to clinical medicine.

Each issue includes these regular features:

- Original Articles • Review Articles • Symposia Reports • Book and Product Reviews • Abstracts.

Raven Press

Department 1B, 1185 Avenue of the Americas, New York, New York 10036
A Wolters Kluwer Company

A szerkesztőség tagjai :
Bajusz Sándor, a kémiai tud.és
Sas Géza az orvostud. doktorai

Napjaink – lapjainkban

Visszalépés a kutatás támogatásában

Pungor Ernő lemondásáról és a jövőről

Nemrégiben kelt a hír: Pungor Ernő akadémikus lemondott az Országos Műszaki Fejlesztési Bizottság és az Országos Atomenergiái Bizottság elnöki tisztségéről. Szeptember 30-án történt meg a miniszterelnök által jegyzett felmentés. Horn Gyula egyúttal Pál Lászlót, az ipari tárca vezetőjét nevezte ki az atomenergia bizottság élére, s az ipari tárca felügyeli az OMFB-t is. A tudományos és műszaki kutatás helyzetéről Pungor Ernővel beszélgettünk.

— Ön tudós, nem politikus. Amíg az Országos Műszaki Fejlesztési Bizottság (OMFB) élén állt, kialakult a tudományos kutatás támogatásának új formája, a pályázati rendszer. Ezt annak idején hatpárti parlamenti konszenzussal fogadták el, s az előző kormány egy ideig vonakodott támogatni. Ezek után miért szorult most háttérbe az ön személye, s miért kell egy újfajta támogatási rendszert kijelölni?

— Nem tudom, hogy mindez a személyem ellen szült-e. Inkább egy olyan elgondolásról van szó, amelyet Pál László miniszter úr alakított ki a folytatásról. Ennek következménye viszont az, hogy én lemondtam, amikor láttam: mit akarnak csinálni. Azt az elvet vallom, hogy amit felépíttem, azt nem vagyok hajlandó lebontani.

A régi és az új struktúra különbözőségei

— Melyek a lényegi különbségek a régi és az új struktúra között?

— Az Ipari Minisztérium mostani terveit először még el kell fogadnia a kormánynak is. Ha ez megtörténik, a kutatás finanszírozása többé nem külön országos szervezet keretében, hanem az ipari tárca alárendelve zajlik majd. A műszaki fejlesztés támogatásának egységes struktúráját kettéosztják: egy, az államapparátusba nem tartozó elnökséget és egy hivatali alakítanak. Ezek kölcsönösen beleszólhatnak egymás tevékenységébe, ami sürölődások tömegét hozhatja magával. Szerintem ez korszerűtlen és rossz szervezeti forma. A kutatásfejlesztésre szánt pénzt — amely még kevesebb a korábbiánál — előre csoportosítani kívánják egy-egy terület szerint, így egyes kutatóintézményeknek mesterségesen kell kitölteniük a felülről kapott nagy keretet, míg más, esetleg tehetségesebb csoportoknak alig jut valami. Ez nemzeti kárt jelent.

— Mennyiben visszalépés ez az 1990 előtti rendszerhez, a Központi Műszaki Fejlesztési Alap (KMÚFA) szervezéséhez?

— Igen nagy mértékűnek látszik ez a visszatérés, bár kétszer nem lehet ugyanabba a folyóba lépni. Az akkori OMFB egyik fő feladata már régen is az volt, hogy tanulmányokat készítettett. Ez egy sereg embernek jelentett ha nem is nagy, de biztos jövedelmet. E tanulmányok minimális részéből lett valami haszna az országának, a többi porosodik. A minisztériumi felügyelet visszaállítását követően nyilvánvalóan a többi szaktárca is felemeli a szavát, hogy nekik is legyen kutatási keretük, ahogy ez régen is így volt.

— Az 1990 után bevezetett támogatás egyik előnye viszont az alulról jelentkező fiatal tehetségek támogatása volt.

— A tehetségek kiemelésével 61 százalékban egyúttal kis- és középvállalatokat támogattunk. Ennek oka, hogy a magyar műszakiak jelentős része (otthagya kutatóhelyét) elment vállalkozni. Emellett nemzeti projekteket szerveztünk azért, hogy segítsünk az ország egy-egy alapvető műszaki problémájának megoldásában. Ilyen téma volt a térfomatika fejlesztése, az atomhulladékok megfelelő elhelyezése, az autógyártás hazai be-



szállítói szektorának és a mezőgazdasági gépgyártásnak a támogatása, valamint a korszerű élélmiszerek és csomagolási rendszerek elterjesztése az országban.

— Milyen eredményei vannak a pályázati rendszernek?

— Összesen 10,7 milliárd forintot osztottunk el 1200 pályázó között. A rövid távú, már befejezett 238 program 50 százaléka már bekapcsolódott a termelésbe, 20 százalék bevezetés alatt áll, másik 20 még keresi a helyét, 10 százalék pedig sikertelen volt. A sikeres 50 százalék négyeszer annyi pénzt termelt, mint amennyit az összes jelentkező számára kifizettünk.

Műszaki fejlesztés, nemzetközi kapcsolat

— Egyes vélemények szerint a pályázati rendszer ipari kutatóintézet-ellenes volt.

— Valóban szemben állt azokkal a kutatóintézetekkel, amelyek tehetségtelenek voltak. Azok viszont, amelyek megfelelő szellemi háttérrel, szoftverállománnyal rendelkeztek, kaptak — nem is kis mennyiségben — pénzt. Nem szabad viszont fenntartani az olyan intézeteket, ahonnan négy év alatt csak egy aprócska pályázat érkezik.

— A négy éve működő program harmadik sarkköve a saját belső kutatással rendelkező cégek támogatása lett volna. Ez mikorolt indulhatott volna?

— 1997–98-tól, amikor várhatóan létrejönnek majd ezek a cégek. Ma Magyarországon a vállalatok jó része nem folytat önálló kutatást. Nekem féltetem az is, hogy a mostani kormányzat nem támogatja kellően a kutatásfejlesztést.

— Ezt a közelmúltban az OMFB-től elvont 600 millió forint miatt gondolja?

— Nem, hanem a jövő évi pénzügyi tervek miatt. A rendszer egészének átalakítása azt jelzi, hogy ezt a területet nem tartják annyira fontosnak. A másik baj az, hogy a már meglévő termék indításához sem adják meg a szükséges feltételeket: az adó- és vámkedvezményeket és azt az indulási tőkét, amelyet csak később kell visszafizetni, s akkor is csak mérsékelt kamattal. Ezek most mind hiányoznak. A lemondásuk szerint a műszaki fej-

lesztés költségvetési támogatása amúgy is nagyon alacsony lesz.

— 1990 után bizonyára gyökeresen megváltoztak hazánk nemzetközi kapcsolatai a műszaki fejlesztés terén (is).

— E kapcsolatok négy éve még meglehetősen zilált állapotban voltak. Az OMFB ezt követően viszont a kétoldalú együttműködés területén leépítette a tudományos turizmust, s helyette bevezette a nemzetközi életben normális projektrendszerrel. A két ország kutatóhelyei által benyújtott pályázatokból azokat választottuk ki, amelyek mindkettőnknek fontosak voltak. Az USA-val kb. 120, Németországgal mintegy 55 ilyen programunk van ma. Ezek jó része alaputatással kapcsolatos, de az utóbbi időben a Nyugat már fejlesztési együttműködésekre is hajlandó. A multilaterális kapcsolatoknál a COST (Európai Együttműködés a Tudományos és Műszaki Kutatások Terén) szervezetén belül dolgozhatunk 1991 óta, főképp az alaputatásokban. Itt jelenleg több mint 50 közös munkánk van. A magyar ipar számára nagyon fontos az EURÉKA (Európai Technológiai Kutatási Együttműködés), ahová fejlesztési módszereink láttán hívtak meg minket — elsőként a volt szocialista blokkból. Itt most 28 témában tud együtt dolgozni a hazai ipar a legmagasabb nyugati technikával. A CERN (Részecskefizikai Kutatások Európai Szervezete) keretében sikerült elműnk, hogy a magyar ipar most beszállítóként is részt vehet a szervezet munkájában. Márpedig aki CERN-munkáról szóló bizonylatot mutat fel a nemzetközi piacon, azt általában elfogadják. A kapcsolat kiépítése után most a belső munkákra: a hazai ipar felgyorsítására s a műszaki infrastruktúra kiépítésére kell koncentrálni.

Miért nem jött létre innovációs törvény?

— Az ön vezetése alatt elindult egy kezdeményezés egy innovációs törvény létrehozására is. Ez végül miért nem jött létre?

— Az innovációs hosszú folyamat, amely az alaputatástól egészen a termék mindent magában foglal. Mi 1991-ben kidolgoztuk törvényjavaslatainkat. Ez azonban nem ment át az Országgyűlés tudománypolitikai bizottságán, mert néhány ellenzője attól félt, hogy ezzel az OMFB egyúttal kutatásfejlesztési minisztérium lesz. 1993 elején ugyan született végre egy kormányhatározat az innovációs politikáról, amit azonban nem hajtottak végre. Ezt a mostani kabinet nyilvánvalóan szintén nem teszi meg.

— A nemzetközi kapcsolatok bővülésével párhuzamosan viszont növekszik a külföldön dolgozó fiatal kutatók száma is. Változatlan-e a jelenség, és hányan vannak kint?

— A fejlesztéshez pénz kell, s hat év is eltelhet, amíg egy termék befutottá válik. Mivel itt sokan nem találnak támogatást, így külföldre mennek. Régebben 4500 emberrel beszéltek, lehet, hogy változatlan ez az adat. Van azonban ellenhatás is. Van, aki visszajön, másrészt egyes országok is törekednek arra, hogy ne tartsák sokáig ott a külföldi kutatókat, csak a legjobbakat.

— Lemondását követően ön most a Bay Zoltán Intézhálózatot irányítja, amelynek Szegeden, Miskolcon és Budapestben van már intézménye. Tervezik-e a bővítést?

— Ehhez három feltétel kell: az új helyen legyen jó alaputatási háttér és doktoranduszokat is biztosító egyetem; a helyi önkormányzat (anyagilag is) támogassa az intézetet; és végül az, hogy pontosan megfogalmazzák az új létesítmény célját.

BINDER ISTVÁN

HÍREK ÉS ESEMÉNYEK

FALUS ANDRÁS - lapunk szerkesztő bizottságának 1982 óta tagja -
1994.július 1-től a Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézetének tanszékvezető egyetemi tanára.

Biológusként 1970-ben végzett az ELTE TTK-n. 1972-ben egyetemi doktor, 1982-ben a biológiai tudományok kandidátusa, 1990-ben a biológiai tudományok doktora. Előbb az ELTE Összehasonlító Élettani Tanszékén (1970-75), majd kinevezéséig az ORFI munkatársaként dolgozott. Főbb érdeklődési területei jelenleg : a hisztaminológia, a citokinreceptorok jelátviteli folyamatainak molekuláris szabályozása, a kortikoszteroid-receptorok molekuláris genetikája és a géndiagnosztika.

Több hosszabb tanulmányúton vett részt Dániában, az USA-ban és Japánban. Mintegy 150 közlemény szerzője. Két könyvet és számos könyvfejezetet írt.

A Magyar Immunológiai Társaság és a MTA Immunológiai Bizottságának elnöke, több nemzetközi társaság tagja, ill. alapító tagja.

oXo

OMFB A MŰSZAKI ÉRTELMISSÉG HELYZETE ÉS SZEREPE

A magyar reálértelmiség körében végzett átfogó vizsgálat eredményét tartott sajtótájékoztatót dr. GELEJFI FRIGYES, az OMFB általános elnökhelyettese, a kémiai tudomány doktora.

A beszámoló tárgya a műszaki értelmiség helyzetét és szerepét tárta fel 56 (!) tagú koordináló bizottság munkája alapján. A tanulmány főbb fejezetei :

- Az extenzív fejlődés öröksége.
- Kedvező és kedvezőtlen folyamatok 1989-93 között.
- A reálértelmiség keresete és a közvetett szociális támogatások.
(a költségvetési intézmények és a vállalatok dolgozóinak kereseti aránya)
- A műszaki értelmiség alkalmazkodási stratégiája a vállalkozás
(a vállalkozások eredményessége)
- A szerkezetátalakítás veszteségei : a munkanélküliek.

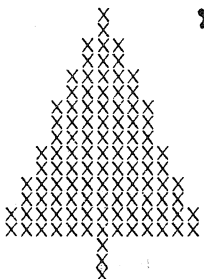
A tanulmány elvi következtetése : a műszaki értelmiség alkotó tevékenysége napjainkban is kiemelkedő fontosságú: a recesszió leküzdésének nélkülözhetetlen eszköze.

A táblázatokkal és ábrákkal ellátott, statisztikai adatok felhasználásával összeállított tanulmány az érdeklődők rendelkezésére áll. (Fel.szerk.)

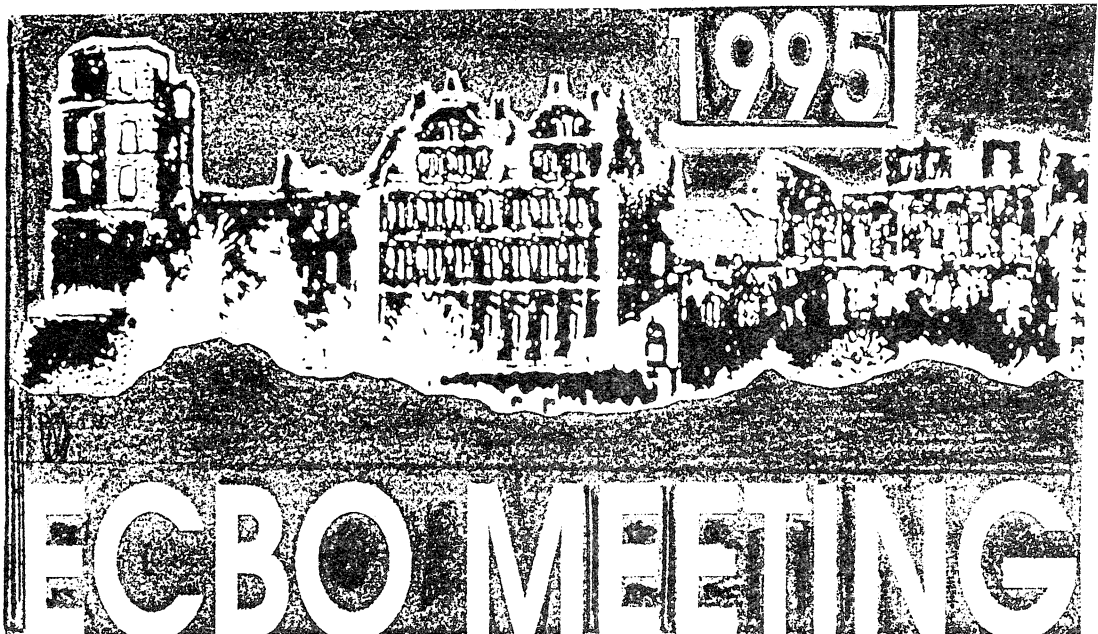
xXx

'94

'95



Lapunk minden olvasójának
békés karácsonyt és sikerekben
gazdag
boldog új évet kíván a
szerkesztő bizottság



April 5 - 8 in Heidelberg
together with the German Society for
Cell Biology

MINISYMPOSIA

Exocytosis and endocytosis
Cell biology of antigen presentation
presentation
Cytoskeletal organization and
function
Signal transduction
Extracellular matrix
Apoptosis
Biogenesis of chloroplasts, mito-
chondria and peroxisomes
The synapse : organization and function
Cell biology of virus infection
Chromosome structure and function
Protein folding and degradation
Toxins as cell biological tools

PLENARY SYMPOSIA

MEMBRANE TRAFFIC
NUCLEAR ORGANIZATION
MOTORS AND MOVEMENTS
CELL CYCLE
CELL INTERACTIONS
CELL BIOLOGY OF
DEVELOPMENT

Registration and Abstract Booklet from:

"ECBO 1995"

European Molecular Biology Laboratory
Postbox 10 22 09 Fax: 49-6221-387575
69 012 Heidelberg, Germany