

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, Sarkadi Balázs

Felelős szerkesztő : Bagdy Dániel
Technikai szerkesztő : Bölöni Erzsébet

A tartalomból : Protein foszfatázokat gátló toxinok
szerkezete és hatásmechanizmusa

TT-232, egy erős in vitro és in vivo
antitumor aktivitású tumorszelektív
szomatosztatin analóg

Tumorellenes szer (daunomicin) -
elágazó láncú noliptid-konjugátumok
szintézise és jellemzése

Beszámolók nemzetközi tudományos találkozókról
23rd Meeting of the Federation of European
Biochemical Societies, Basel Aug.13-18,1995.
2nd International Conference of the Hungarian
Biochemical Society, Szeged Aug.21-23,1995.
Eötvös Workshops in Science '95 : Synthetic
Polymers in Drug Delivery Research (SPIDER)
Budapest, Oct.2-4,1995.

Egyesületi élet

Napjaink - lapjainkban - Hírek és események

Contents

Structure and mechanism of action of toxins blocking
protein phosphatases
TT-232, a tumor-selective somatostatin analogue with
strong antitumor activity in vitro and in vivo
Synthesis and characterization of drug/enzyme inhibi-
tor-branched polypeptide conjugates (daunomicin)
Reports on international meetings
23rd FEBS-Meeting
2nd International Conference of Hungarian Biochem. Society
Eötvös Workshop in Science '95

E számunk szerzői: Bak Judit, Erdődi Ferenc, Friedrich Péter, Hudecz Ferenc
Kéri György, Orosz Ferenc, G.Vértessy Beáta és Vígh László

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

Felelős kiadó : dr. Guba Ferenc

Készült a Semmelweis Orvostudományi Egyetem Házinyomdájában, 1088 Budapest
Diószeghy Sámuel u. 21. Az engedély száma : III/SZI/397/1977 HU ISSN 01338455

PROTEIN FOSZFATÁZOKAT GÁTLÓ TOXINOK SZERKEZETE ÉS HATÁSMECHANIZMUSA

Erdődi Ferenc

DOTÉ Orvosi Vegytani Intézet

Bevezetés

A fehérjék reverzibilis foszforilációja szeril, treonil és tirozil aminosavmaradékokon csaknem minden sejt folyamat szabályozásában alapvető szerepet játszik. Ezen kutatási terület fejlődését és sokoldalúságát a felfedezett átalakító enzimek, a protein kinázok és foszfatázok nagy száma is érzékelteti (1). A foszforilációs mechanizmusok kutatásának jelentős mozzanata volt az a felismerés, hogy a protein kinázok aktiválása számos esetben másodlagos hírvivők közvetítésével történik. Ez a fehérje foszforiláció közvetlen szerepére utal az extracelluláris jelek intracelluláris történésekké való átalakításában. Ezzel szemben a protein foszfatázoknak kezdetben csak azt a "passzív" szerepet szánták, hogy a fehérjék defoszforilációjával a foszforilációs módosítások reverzibilitását biztosítsák. Felismerték azonban számos eltérő típusú foszfatáz létezését, és sokasodtak azok a megfigyelések is, amelyek a foszfatázok gátló fehérjékkel (inhibitor-1, inhibitor-2, DARPP-32) vagy éppen aktiváló molekulakomplexekkel (Ca^{2+} -kalmodulin) történő szabályozására utaltak (2).

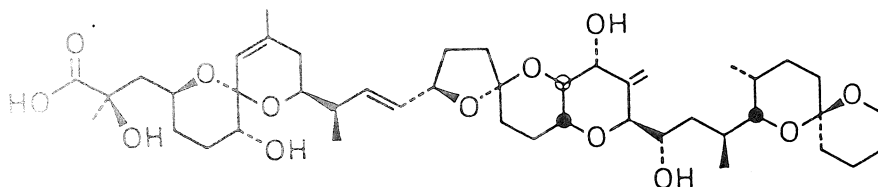
A protein foszfatázok fiziológiai szerepének megismerésében fontos lépés volt a foszfatázok aktivitását gátló toxinok felfedezése (3). Ezeknek a toxinoknak a többsége olyan természetes vagy szintetikus eredetű molekula, amelyek a sejtmembránon áthatolva képesek gátolni a defoszforilációs folyamatokat. Ezáltal megváltozik a protein kinázok és foszfatázok aktivitásának aránya, ami a célfehérjék magasabb foszforilációs állapotát eredményezi a kinázok aktivitásának növekedése nélkül. A sejtfehérjék foszforilációs szintjének tartós emelkedése kóros sejt válaszokhoz, ill. sejttranszformációhoz is vezet. Ezek a megfigyelések megerősítették, hogy a foszfatázok a sejtek alapvető működését biztosító szabályozási rendszer elemei. Ezért a foszfatáz inhibitorok felismerése és hatásmechanizmusuk feltárása a biokémiai és sejtbiológiai kutatások fontos területévé vált.

Jelen összefoglaló a foszfatázra ható toxinok szerkezetéről, hatásmechanizmusáról és a különböző enzimekkel szemben mutatott specificitásáról ad áttekintést irodalmi adatok és saját kísérletek alapján. Ennek során az emlős szövetekben a legnagyobb mennyiségben előforduló, foszfoszerin és foszfortreonin specifikus protein foszfatáz 1 (PP1), 2A (PP2A) és 2B (PP2B) enzimekre ható inhibitorokat ismertetem.

A toxinok szerkezete és kölcsönhatása a foszfatázokkal

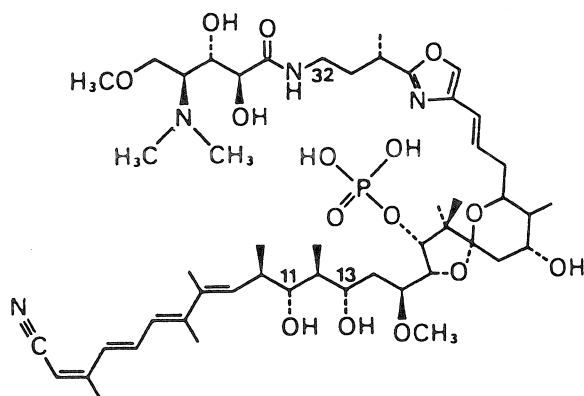
Az okadainsav volt az első toxin, amelynek foszfatázgátló hatását felismerték (4).

A poliéter kötéseket tartalmazó zsírsav szerkezete:

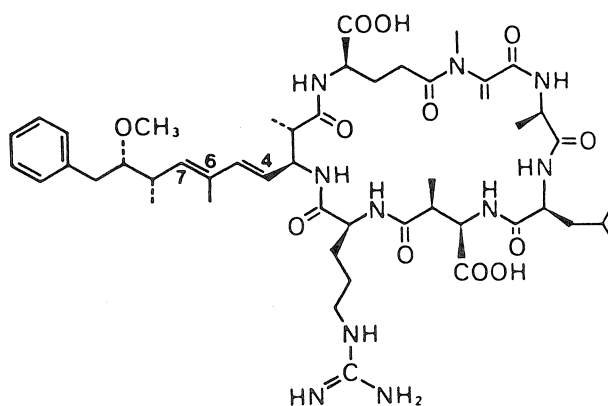


okadainsav

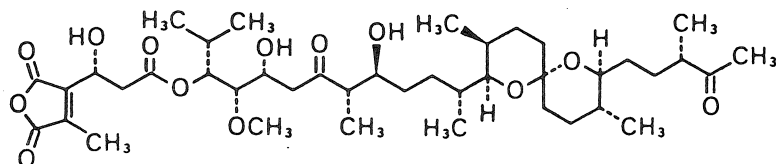
A toxint a tengeri szivacsokban található dinoflagelláták (pl. *Halichondria okadae*) termelik, ami a szivacsokkal táplálkozó halakban felhalmozódik, nemegyszer kóros hasmenéssel járó tüneteket okozva a halakat fogyasztó tengerparti települések lakóinak körében. Az okadainsav hatásmechanizmusáról először azt feltételezték, hogy a toxin a membránba illeszkedve ionoforként megváltoztatja a fémionok megoszlását a membrán két oldalán és ezzel magyarázható simaizom kontrakciót indukáló hatása (5). Az okadainsav azonban simaizom kontrakciót indukált "nyúzott" (membrán nélküli) simaizom mintákon is, ami megkérdőjelezte a membrán feltételezett szerepét az okadainsav hatásának közvetítésében (4). Kimutatták, hogy a simaizom kontrakció a miozin 20 kDa könnyűláncának megnövekedett foszforilációjával magyarázható, ami a miozin könnyűlánc foszfatáz okadainsavval történő gátlásának tulajdonítható (4,6). Az okadainsav foszfatázgátló hatásának felismerése 1987-ben egybeesett a foszfatázok molekuláris szintű kutatásának kiterjedésével. Nem csoda, hogy az okadainsav hamarosan a kutatók egyik legfontosabb fegyverévé vált a foszforilációs mechanizmusok, ezen belül a foszfatázok funkciójának kutatásában. Ezzel egyidőben lázas kutatás kezdődött hasonló gátló hatású toxinok után. Ennek eredményeként felismerték a szintén tengeri eredetű fajokból (pl. *Discodermia*) izolált kalikulin A (7), a kék-zöld algából (*Mycrocystis aeruginosa*) elkülöníthető mikrocisztinek (8), és a *Streptomyces verticillatus* baktériumtörzsben található tautomycin (9,10) foszfatázgátló hatását.



kalikulin A



mikrocisztin-LR



tautomycin

A toxinokra jellemző, hogy mindegyikük viszonylag alacsony koncentrációban gátolja a PP1 és a PP2A aktivitását, de gyakorlatilag nem befolyásolják a PP2B enzim aktivitását (1. táblázat).

1. táblázat. A protein foszfatázok 50%-os gátlásához szükséges toxinkoncentrációk (IC₅₀)*

Toxin	IC ₅₀ (nM)		
	PP1	PP2A	PP2B
okadainsav	4-100	0,07-0,3	5000
kalikulin A	0,3-1	0,13-0,4	1000
mikrocisztin	0,01-0,06	0,01-0,04	200
tautomicin	0,16-0,7	0,4-0,65	10000

*IC₅₀ függ a foszfatáz preparátum tisztaságától és az alkalmazott foszfoszubsztráttól. A táblázat különböző munkacsoportok által (7-13) tisztított enzimpreparátumokkal meghatározott adatait tartalmazza a szélső értékek feltüntetésével.

Az 1. táblázat adataiból kitűnik, hogy a PP1 és a PP2A érzékenysége az okadainsav iránt eltérő, és ez felhasználható a kétféle enzim megkülönböztetésére (14). Az okadainsav 1-2 nM koncentrációja a PP2A aktivitását teljesen gátolja, amíg a PP1 ennél a toxinkoncentrációnál nem gátlódik jelentős mértékben. A kalikulin A, a mikrocisztin és a tautomicin hasonló koncentrációban gátolja a PP1 és a PP2A aktivitását is.

Érdekes, hogy bármennyire is különböző a toxinok szerkezete, a foszfatáz katalitikus alegységekhez történő kötődésük az enzimek közel azonos, de legalábbis egymással átfedő felszínén következik be. Ennek tulajdonítható, hogy a toxinok kölcsönösen kizárják egymás kötődését PP1 vagy PP2A enzimekhez (8,9). A PP2A aminosavsorrendjében azonosították azt a rövid peptidszakaszt (YRCG), amely felelős azért, hogy az okadainsav erősebben kötődik a PP2A-hoz, mint a PP1-hez (15).

kovalens kötődés a mikrocisztinhez

↑

PP1 261R Q L V T L F S A P N Y C G E F D N A G A M M S V²⁸⁵
 PP2A 254R N V V T I F S A P N Y C Y R C G N Q A A I M E L²⁷⁹
 PP1 (m) 261R Q L V T L F S A P N Y C Y R C G N A G A M M S V²⁸⁵

Mutáns PP1 előállításával (PP1m) bizonyították, hogy az YRCG peptidszakasz behelyettesítése a PP1-be növeli az enzim okadainsav iránti érzékenységét.

Kimutatták azt is, hogy a toxinok szerkezetének csekély változása is a gátló hatás nagymértékű csökkenését ill. elvesztését eredményezi (12,16). Ez arra utal, hogy a toxinmolekulák nagyfokú integritása és specifikus konformációja szükséges a foszfatázokkal való erős kölcsönhatás kialakulásához. A PP1 katalitikus alegységének mikrocisztinnel alkotott komplexét kristályosították. A kristály röntgendiffrakciós vizsgálata további adatokkal szolgált a toxin és a foszfatáz kölcsönhatására (17). A mikrocisztin kötőhely az enzim karboxiterminális harmadán található. A mikrocisztin és a PP1 között kovalens kötés alakul ki az enzim cisztein-273 szulfhidril csoportja és a toxin dehidroalanin komponensén található etén csoport addíciós reakciójával. A mikrocisztin molekulában található etén kettőskötés addíciós készsége lehetővé tette mikrocisztin affinitás kromatográfia alkalmazását a foszfatázok hatékony tisztítására (19). A mikrocisztinhez aminoetántiolt (ciszta mint) addíciónálva egy szabad aminocsoport alakul ki a molekulában, s ezáltal a mikrocisztin aktivált Sepharose mátrixhoz kapcsolható. Ez a kémiai módosítás a mikrocisztin és a foszfatáz között kialakuló kölcsönhatás erősségét csak kismértékben csökkenti, annak ellenére, hogy a toxin és a foszfatáz közötti kovalens kötés lehetősége megszűnt. Ezért a mátrix alkalmas a foszfatázok szennyező fehérjéktől történő elválasztására és az enzim gyors tisztítására.

A toxinok hatása *in vivo*

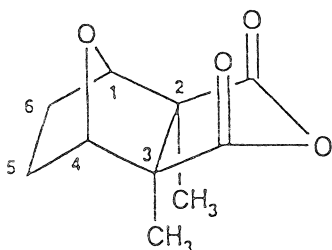
Az okadainsav, a kalikulin A és a tautomycin a sejtmembránon ájtutva a szövetek és a sejttényeszetek biológiai funkcióit alapvetően befolyásolják. Ezek a toxinok a már említett izomkontrakciót kiváltó hatásuk mellett (4,5,10) látványos morfológiai változásokat indukálnak sejttényeszetekben (20-22). A toxinok hatására a sejtek legömbölyödek és elszakadnak az extracelluláris mátrixtól, miközben az aktin mikrofilamentek átrendeződnek. Az okadainsav és a kalikulin A tumor promoter hatását is kimutatták (12). A toxinok membránpermeabilitása is jelentősen különbözhet. Úgy tűnik, hogy az okadainsav, a kalikulin A és a tautomycin képes áthatolni a különböző eredetű sejtek membránjain. Ezzel szemben a mikrocisztint eddig csak a májsejtekre és a növényi sejtekre találták hatásosnak ill. toxikusnak. A mikrocisztin hepatotoxikus hatása egerekben a máj térfogatnövekedésével és az állatok gyors elpusztulásával jár (23). Ezzel összhangban a mikrocisztin májsejttényeszetekben is a foszfatáz inhibitorokra jellemző morfológiai

változásokat indukál (21,24,25). Kimutatták, hogy a mikrocisztin a májsejtekbe az epesav transzportrendszeren keresztül jut be. Ezt azzal bizonyították, hogy az epesav transzportrendszer gátlása rifamicinnel vagy ciklosporinnal kivédi a mikrocisztin foszfatáz gátló és toxikus hatását (23). A mikrocisztin gátolja bizonyos növényi sejtek növekedését is. Ezt felhasználva magyar kutatók olyan eljárást dolgoztak ki a mikrocisztin kimutatására, ami a toxinnak a növényi magvak növekedésére kifejtett gátló hatásán alapul (26).

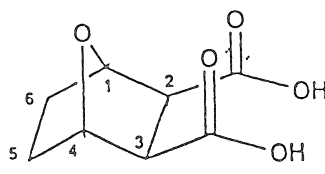
A toxinok itt felsorolt biológiai hatásának molekuláris hátterét a sejtfehérjék foszforilációjának egyértelmű növekedése képezi (27). Ez is arra utal, hogy a toxinokra érzékeny PP1 és PP2A számos sejt folyamat szabályozásában játszik alapvető szerepet. A toxinok közül azonban még az okadainsav sem alkalmas a PP1 és a PP2A szerepének elkülönítésére *in vivo*. A foszfatázok intracelluláris koncentrációja ugyanis 0,1-1 μM -ra tehető, ezért a foszfatázok gátlásához legalább ilyen koncentrációjú toxinra van szükség egyszerű enzim-inhibitor komplex kialakulását feltételezve. Ekkora foszfatáz és okadainsav koncentrációk esetén azonban már nem érvényesül az eltérő affinitásból adódó szelektivitás és a toxin mindkét enzimet egyaránt gátolja.

Peszticidek foszfatázgátló hatása

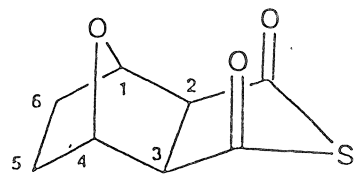
A közelmúltban felismerték, hogy a kantaridin, ami a kőrösbogár méreganyagaként ismert, gátolja a PP1 és a PP2A aktivitását (28-30). A felismerés jelentőségét tovább növeli az a tény, hogy néhány kantaridinszármazék, mint pl. az endotál és az endotál tioanhidrid a mezőgazdaságban gyom-, ill. rovarirtószerként használatos. Az endotál szintén gátolja a PP1 és a PP2A aktivitását (29), azonban az endotál tioanhidrid foszfatázgátló hatását nem vizsgálták részletesen.



kantaridin



endotál



endotál tioanhidrid

Az endotál tioanhidrid csak kismértékben kötődött a különböző szövetekből izolált kantaridinkötő fehérjéhez (29), amiről bebizonyosodott, hogy azonos a PP2A egyik holoenzim formájával (28). A három vegyület közül azonban az endotál tioanhidrid a legtoxikusabb vegyület. Ez indokolta, hogy az általunk korábban kidolgozott állatkísérleti modellt felhasználva (31,32), valamint szövettényeszetben végzett vizsgálatokkal kísérletet tegyünk a kantaridin származékok toxicitása és foszfatázgátló hatásuk közötti összefüggések feltárására (33). Először összehasonlítottuk a toxinok tisztított foszfatázokra kifejtett gátló hatását. Azt találtuk, hogy a toxinok kantaridin > endotál > endotál tioanhidrid sorrend szerint gátolják a PP1 és a PP2A katalitikus alegységek aktivitását (2. táblázat).

2. táblázat. Kantaridin származékok hatása a PP1 és a PP2A katalitikus alegységek aktivitására.

Toxin	IC ₅₀ (μM)	
	PP1	PP2A
kantaridin	0,3	0,1
endotál	1,8	1,0
endotál tioanhidrid	25,0	6,0

Az *in vitro* meghatározott gátlási állandók valóban azt sugallják, hogy az endotál tioanhidrid kötődik legkevésbé a foszfatázokhoz, ezért nagyfokú toxicitásában a foszfatázgátlás mellett valószínűleg más folyamatok is szerepet játszhatnak. A mérgeket a patkányok portális vénájába fecskendezve, majd májszeletekből a foszfatáz aktivitását meghatározva az *in vivo* foszfatázgátló képesség és a toxicitás közötti viszonyt is megvizsgáltuk. Különböző toxinkoncentrációk alkalmazásával mindegyik toxinra meghatároztuk az *in vivo* 50%-os gátlást eredményező toxinmennyiséget (3. táblázat) és ezt összevetettük az irodalomban található LD₅₀ értékekkel.

3. táblázat. Kantaridin származékok foszfatáz gátló hatásának és toxicitásának összehasonlítása

Toxin	IC ₅₀ (μM/kg testsúly)	LD ₅₀ * (mg/kg testsúly)
kantaridin	1,3	1,0
endotál	8,0	14,0
endotál tioanhidrid	0,9	0,3

*Li, Y-M., and Casida, J.E. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80, 11867-11870

A 3. táblázat adatai arra utalnak, hogy a kantaridin származékok *in vivo* protein foszfatáz gátló hatása megfelel a mérgek toxicitási sorrendjének. Ezért feltételezhető, hogy a mérgek toxicitása főleg foszfatázgátló hatásukon keresztül érvényesül.

A toxinok töltésmintázata kismértékben eltérő és ez fontos szerepet játszik ezeknek a molekuláknak a membránon történő átjutásában. Az endotál negatív töltésű karboxilát csoportjai valószínűleg nagymértékben gátolják a molekula intracelluláris térbe történő transzportját. A májsejteken megfigyelt foszfatázgátló hatás valószínűleg annak tulajdonítható, hogy a májban számos membrántranszport folyamat segítheti a töltéssel rendelkező molekulák sejtekbe jutását. Tanulmányoztuk a kantaridin származékok hatását fibroblaszt sejt kultúrák felhasználásával is (33). Eredményeink szerint csak az endotál tioanhidrid indukált tipikus, a foszfatáz inhibitorokra jellemző morfológiai változásokat. Ez arra utal, hogy csak az endotál tioanhidrid permeábilis ezen sejtek membránjain és egyben megerősíti azt a feltételezést, hogy a kantaridin és az endotál valószínűleg csak hepatospecifikus inhibitora a foszfatázoknak.

Összefoglaló megjegyzések

Reményeim szerint a fenti rövid összefoglalóval sikerült érzékeltetni a foszfatázokra ható toxinok jelentőségét a fehérje foszforiláció és a különböző sejt folyamatok kapcsolatának felderítésében. A foszfatázgátló toxinok a protein foszfatázok, egyébként fáradságos és körülményes, tisztítási eljárásait is egyszerűsíthetik. A toxinokkal végzett affinitás kromatográfia ezen kívül segítséget jelenthet a foszfatázhoz kötődő fehérjék izolálásában és azonosításában is.

Úgy tűnik, hogy a foszfatáz gátló toxinok családja egyre népesebb lesz, és ezek magukba foglalnak ma már néhány széleskörűen alkalmazott növényvédőszer is. Magyarországnak nincs tengere, ezért a tengeri toxinok hatásától lakosságunknak nem kell tartania. Figyelmeztető jel azonban, hogy a *Mycrocystis aeruginosa* megtalálható a Velencei tóban (26), tehát a mikrocisztin mérgezések potenciális veszélyt jelenthetnek hazánkban is. A peszticidek közül az endotál és az endotál tioanhidrid Magyarországon nincs már forgalomban, azonban egyes származékok (mint pl. az endoszulfán) az engedélyezett és forgalomban lévő növényvédőszer közé tartoznak. Itt említem meg, hogy piretroid típusú rovarölőszer, mint pl. cipermetrin vagy deltametrin, a PP2B hatékony és szelektív gátlószerei (34). Ezek az adatok arra utalnak, hogy kialakulóban van a fehérje foszforiláció és a környezetbiokémia kapcsolata és feltehetőleg a protein foszfatáz aktivitás mérések érzékeny tesztelési módszerként használhatók az ilyen típusú környezetszennyezések kimutatásában.

Hivatkozások

1. Krebs, E.G. (1994) TIBS 19, 439
2. Cohen, P. (1989) Ann. Rev. Biochem. 58, 453-508
3. MacKintosh, C., and MacKintosh, R.W. (1994) Trends in Biochem. Sci. 19, 444-448
4. Takai, A., Bialojan, C., Troschka, M., Rüegg, J.C. (1987) FEBS Lett. 217, 81-84
5. Shibata, S., Ishida, Y., Ohzumi, Y., Habon, J., Tsukitani, Y., Kikuchi, H. (1982) J. Pharmacol. Exp. Ther. 223, 135-143
6. Erdődi, F., Rokolya, A., DiSalvo, J., Bárány, M., Bárány, K. (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153, 156-161
7. Ishihara, H., Martin, B.L., Brautigan, D.L., Karaki, H., Ozaki, H., Kato, Y., Fusetani, N., Watabe, S., Hashimoto, K., Uemura, D., Hartshorne, D.J. (1989) Biochem. Biophys. Res. Commun. 159, 871-877
8. MacKintosh, C., Beattie, K.A., Klumpp, S., Cohen, P. and Codd, G.A. (1990) FEBS Lett. 264, 187-192
9. MacKintosh, C., Klumpp, S. (1990) FEBS Lett. 277, 137-140
10. Hori, M., Magae, J., Han, Y.-G., Hartshorne, D.J., Karaki, H. (1991) FEBS Lett. 285, 145-148
11. Cohen, P. (1991) Methods Enzymol. 201, 389-398
12. Fujiki, H., Suganuma, M. (1993) Adv. Cancer Res. 61, 143-194
13. Honkanen, R.E., Zwiller, J., Moore, R.E., Daily, S.L., Khatra, B.S., Dukelow, M. and Boynton, A.L. (1990) J. Biol. Chem. 265, 19401-19404
14. Cohen, P., Klumpp, S., Schelling, D.L. (1989) FEBS Lett. 250, 596-600
15. Zhang, Z., Zhao, S., Long, F., Zhang, L., Bai, G., Shima, H., Nagao, M., Lee, E.Y.C. (1994) J. Biol. Chem. 269, 16997-17000

16. Nishiwaki, S., Fujiki, H., Suganuma, M., Furuya-Suguri, H., Matsushima, R., Iida, Y., Ojika, M., Yamada, K., Uemura, D., Yasumoto, T., Schmitz, F.J., Sugimura, T. (1990) *Carcinogenesis* 11, 1837-1841
17. Goldberg, J., Huang, H., Kwon, Y., Greengard, P., Nairn, A.C., Kuriyan, J. (1995) *Nature* 376, 745-753
18. MacKintosh, R.W., Dallby, K.N., Campbell, D.G., Cohen, P.T.W., Cohen, P., MacKintosh, C. (1995) *FEBS Lett.* 371, 236-240
19. Moorhead, G., MacKintosh, R.W., Morrice, N., Gallagher, T., MacKintosh, C. (1994) *FEBS Lett.* 356, 46-50
20. Chartier, L., Rankin, L.L., Allen, R.E., Kato, Y., Fusetani, N., Karaki, H., Watabe, S., Hartshorne, D.J. (1991) *Cell Motil. Cytoskeleton* 18, 26-40
21. Boe, R., Gjertsen, B.T., Vintermyr, O.K., Houge, G., Lanotte, M. and Doskeland, S.O. (1991) *Exp. Cell Res.* 195, 237-241
22. Hirano, K., Chartier, L., Taylor, R.G., Allen, R.E., Fusetani, N., Karaki, H., Hartshorne, D.J. (1992) *J. Muscle Res. Cell Motil.* 13, 341-353
23. Runnegar, M.T., Kong, S. and Berndt, N. (1993) *Am. J. Physiol.* 265, G224-G230
24. Eriksson, J.E., Toivola, D., Meriluoto, J.A.O., Karaki, H., Han, Y.-G. and Hartshorne, D. (1990) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 173, 1347-1353
25. Yoshizawa, S., Matsushima, R., Watanabe, M.F., Harada, K., Ichihara, A., Carmichael, W.W., Fujiki, H. (1990) *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 116, 609-614
26. Kós, P., Garzó, Gy., Surányi, Gy., Borbély Gy. (1995) *Anal. Biochem.* 225, 49-53
27. Haystead, T.A.J., Sim, A.T.R., Carling, D., Honnor, R.C., Tsukitani, Y., Cohen, P., Hardie, D.G. (1989) *Nature* 337, 78-81
28. Li, Y-M., and Casida, J.E. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, 11867-11870
29. Li, Y-M., MacKintosh, C. and Casida, J.E. (1993) *Biochem. Pharmacol.* 46, 1435-1443
30. Honkanen, R.E. (1993) *FEBS Lett.* 330, 283-286
31. Farkas, I., Tóth, B., Bot, G. and Gergely, P. (1986) *FEBS Lett.* 203, 253-256
32. Tóth, B., Bollen, M. and Stalmans, W. (1988) *J. Biol. Chem.* 263, 14061-14066
33. Erdódi, F., Tóth, B., Hirano, K., Hirano, M., Hartshorne, D.J., Gergely, P. (1995) *Am. J. Physiol. (Cell Physiol.)* 38, in press
34. Enan, E., Matsumura, F. (1992) *Biochem. Pharmacol.* 43, 1777-1784

TT-232, egy erős *in vitro* és *in vivo* antitumor aktivitást mutató tumorszelektív szomatosztatin analóg

Kéri György,¹ Érchegyi Judit,¹ Vántus Tibor,¹ Horváth Anikó,¹ Mező Imre,¹ Balogh Ágnes,¹ Idei Miklós,¹ Vadász Zsolt,¹ Seprődi János,¹ Bökönyi Györgyi,¹ Teplán István,¹ Tóth Gábor,² Csuka Orsolya,³ Tajeda Miguel,³ Gál Dezső,³ Szende Béla,⁴ Szegedi Zsolt,⁴ Claude Roze,⁵ Holger Kalthoff,⁶ Axel Ullrich,⁷

1 MTA-SOTE EKSZ Egyesített Kutatási Szervezete, SOTE I. Biokémiai Intézete, 1444-Budapest, 8. Pf 260. 2 SZOTE Orvosvegytani Intézet, 3 Országos Onkológiai Intézet, 4 SOTE 1.sz. Kórélettani és Kísérleti Rákkutató Intézet, 5 INSERM U 410 Faculte de Medicine, Paris, France, 6 Department of General Surgery, University Hospital, Kiel, Germany, 7 Max-Planck Institut für Biochemie, Martinsried, Germany

BEVEZETÉS

A szomatosztatin, mely egy természetben előforduló tetradekapeptid, az egyik legfontosabb gátló hatású peptidhormon, mely gátolja a növekedési hormon felszabadulását (1), de ezen túlmenően számos más endokrin szekréciót (pl. glucagon, insulin, gastrin) (2,3), illetve sejt funkciót is gátol, illetve regulál (4,5,6,7,8). Az elmúlt évek során az is ismertté vált, hogy a szomatosztatin igen fontos endogén antiproliferatív agens. A szomatosztatin és analógjainak különböző tumor sejtekre gyakorolt *in vitro* és *in vivo* gátló hatását is megfigyelték (9,10,11), ezek antitumor agensként történő alkalmazását azonban a számos mellékhatás korlátozta. Ma már két szomatosztatin analóg is klinikai gyakorlatban van, mint antiszekréciós hormon, és az analógokat eredményesen alkalmazzák bizonyos hormonfüggő tumorok kezelésében is, az előbb említett korlátok között. Ugyanakkor világszerte intenzív kutatások folytak és folynak szelektív hatású analógok kifejlesztésére.

Kutatócsoportunk is előállított és szabadalmaztatott új szomatosztatin analógokat, a peptidek tervezésénél a molekulák tirozin kináz gátló aktivitása és antiproliferációs hatása volt a kiválasztás fő szempontja. Analógjaink egyike, egy hét aminosavból álló peptid, mely az irodalomból ismert analógokkal szemben nem hatos, hanem öttagú gyűrűt tartalmaz D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys-Thr-NH₂ (továbbiakban TT-232) kitűnt a többiek közül jelentős tirozin kináz gátló és sejtosztódást gátló hatása révén. 24 h-s kezelés során a TT-232 erősen gátolta különböző humán vastagbél tumorsejtekben a tirozin kináz aktivitást, és ez a hatás jól korrelált a sejtosztódást gátló hatással (12). Ez az analóg ugyanakkor sem *in vitro*, sem *in vivo* nem gátolta a növekedési hormon felszabadulást patkányokban (12,13,14). NMR vizsgálatok rámutattak arra, hogy ennek az

analógnak, a növekedési hormon felszabadulást gátló szomatosztatin analógoktól, eltérő speciális szerkezete van (15,16).

Az irodalomban már beszámoltak arról, hogy bizonyos peptidhormonok, többek között a szomatosztatin analógok is "programozott sejthalált" (apoptosist) indukálnak humán tumorsejtekben (17,18). Egy kritikus dózis felett a TT-232 esetében dramatikus apoptózist indukáló hatást lehetett megfigyelni (19).

Human vastagbél tumorsejtek rövid ideig tartó (10-100 perc) TT-232-vel történő kezelése során a tirozin kináz enzim gátlása nem volt számottevő, ugyanakkor a tirozin foszfatáz enzim jelentős aktiválását figyeltük meg, mely kétfázisú dózis függést mutatott (20).

Humán emlő-, prosztatá-, és hasnyálmirigy tumorsejtek osztódásának szignifikáns gátlását is megfigyeltük TT-232-vel végzett kísérleteink során (12,13,14,19,21,22,23,24). A National Cancer Institute of NIH (USA) 60 különböző human tumor sejtvonalon tesztelte a TT-232-t és 58 sejtvonalon dramatikus sejtosztódást gátló hatást tapasztaltak egy bizonyos dózisban (100 μ M), sőt ebben a dózisban több mint harminc sejtvonalnál a kiindulási sejtszám is erősen csökkent, ami alátámasztja az apoptózissal kapcsolatos eredményeinket. Egy másik szomatosztatin analógunk a TT-248, amely un."tradicionális típusú" szomatosztatin analógnak tekinthető és egyéb vonatkozásban az irodalomból ismert RC 160-hoz (25) és a Sandostatinhoz (26) hasonló biológiai tulajdonságokat mutat, inaktívnak bizonyult a fent említett 60 sejtvonalon.

A TT-232 sejtosztódást és tirozin kinázt gátló, tirozin foszfatázt aktiváló, valamint apoptózist indukáló hatása arra enged következtetni, hogy a TT-232 a sejtekben működő proliferációs jeltovábbítási mechanizmusok megváltoztatása, illetve a programozott sejthalál indukálása révén fejti ki tumorellenes hatását.

További in vitro és in vivo kísérleteket, hatásmechanizmus vizsgálatokat végeztünk a TT-232-vel, melynek eredményeit foglaljuk össze ebben a cikkben.

Eredményeink azt mutatják, hogy a TT-232 egy ígéretes és szelektív rákellenes gyógyszer lehet.

EREDMÉNYEK

A TT-232 in vitro sejtosztódást gátló hatása különböző human tumorsejtvonalon

Az I.sz. táblázat foglalja össze a sejtosztódás gátlásra vonatkozó eredményeinket és néhány összehasonlító kísérletet is bemutat az RC 160 és Sandostatin nevű tradicionális szomatosztatin analógokkal, melyek már klinikai kipróbálás, illetve használat alatt állnak.

A táblázatban bemutatott 21 sejtvonalon a legkisebb sejtosztódást gátló hatás is elérte az 50 %-ot. Emlő-, prosztatata-, hasnyálmirigy-, leukémia-, melanoma- és gyomor tumorsejtek osztódását 90%-ban gátolta a TT-232-vel történt kezelés. Mind a PC3 humán prosztata, mind a HT-29 humán vastagbél tumorsejtvonalon a TT-232 kb. háromszor hatásosabbnak bizonyult az RC 160-nál, 30 µg/ml dózisban 24 órás kezelést vizsgálva. Öt sejtvonalon a vizsgált 0.1 µg/ml és 1 µg/ml szubmaximális dózisonál a TT-232 sejtosztódást gátló hatása jobb vagy a Sandostatinéhoz hasonló volt.

1. TÁBLÁZAT

TT-232 in vitro sejtosztódást gátló hatása különböző tumorsejtvonalakban

Tumorsejtvonal	TT-232	Sandostatin	RC160
	sejtosztódást gátló hatása (%)		
1. MCF7 breast	87		
2. BSMZ breast	81		
3. SKBR3 breast	69		
4. MDAMB breast	44		
5. PC3 prostate	90		29
	34*	26*	
	56#	14#	
6. DU145 prostate	59		
	40*	50*	
7. SW620 colon	69		
8. HT29 colon	72		25
	37*	38*	
	59#	21#	
	20+	11+	
9. Colo205 colon	54		
10. A549 lung	59		
	32+	20+	
11. Lewis Lung Carcinoma	97		
12. P818/p53 wild type pancreatic	96		
13. P818/p53 mutant pancreatic	51		
14. P818-4 pancreatic	90		
15. HT-58 lymphoma	84		
16. K-562 leukemia	98		
17. WM 938 melanoma	81		
18. M1 melanoma	91		
19. SK-OV-3 ovary	55		
20. 4-1ST gastric	95		
21. M27 rat carcinoma	67		
	49*	0*	

A kezeléseket 24 h át 20-30 µg/ml dózissal végeztük kivéve, ahol azt másképpen jeleztük: *0.1µg/ml; +1 µg/ml; #10 µg/ml

A TT-232 in vivo daganatellenes hatása

A TT-232 in vivo daganatellenes hatását különböző, egerekbe transzplantált tumorokon vizsgáltuk. Mértük a tumortérfogat csökkenést, mely dózis és kezelési idő függő volt.

A TT-232 erősen gátolta a transzplantált Colon 26 tumor növekedését. 750 $\mu\text{g}/\text{testsúly kg}$ dózist alkalmazva 70%-os gátlást, 15 $\mu\text{g}/\text{testsúly kg}$ dózist alkalmazva kb. 60%-os gátlást lehetett elérni a kezelés 24. napjára a kontroll állatokhoz viszonyítva (1. ábra).

A transzplantált B 16 melanoma növekedését 750 $\mu\text{g}/\text{testsúly kg}$ dózisú TT-232 szintén gátolta, 19 nap eltelte után, 50%-os mértékben. Ebben az esetben az alacsonyabb 15 $\mu\text{g}/\text{testsúly kg}$ dózis a tumortérfogat növekedésének 25 %-os gátlását eredményezte (2. ábra).

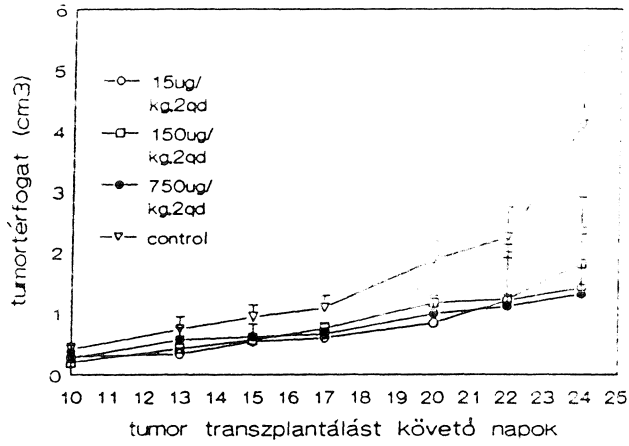
A transzplantált S 180 sarcoma növekedését 750 $\mu\text{g}/\text{testsúly kg}$ dózisú TT-232 kb. 48%-ban gátolta. Az egerek 30%-a tünetmentessé vált 15 $\mu\text{g}/\text{testsúly kg}$ dózis alkalmazásakor és tíz egerből hét 26 %-al tovább élt, mint a kezeletlen kontroll állatok. A 750 $\mu\text{g}/\text{testsúly kg}$ dózisú kezelésnél az egerek átlagosan kétszer olyan hosszú ideig éltek, mint a kezeletlen kontroll állatok (3. ábra).

A TT-232 tumorgátló hatását MDA-MB-231 humán emlő és PC3 humán prosztata xenograft modelleken is vizsgáltuk.

A 4. ábra 0.25 és 0.5 mg/kg dózisban alkalmazott TT-232-nek MDA-MB-231 xenografra gyakorolt hatását szemlélteti a kezelések kezdetétől számított különböző időpontokban (3-4 naponként) elvégzett mérések alapján. A harminc napon át tartó kezelés során mindkét dózis csoportban lehetett tumormentessé vált állatokat találni. Az egyes egerek TT-232-vel szembeni érzékenysége nagy különbségeket mutatott. A szomatosztatin analóggal szemben érzékenyebb xenograftos egerek esetében tumorvisszafejlődés, illetve a lassúbb növekedés formájában megnyilvánuló szignifikáns gátlás (80%) a kezelések beszüntetése után (30 nap) is megfigyelhető volt. A TT-232 tumorgátló hatását a túlélés alapján is értékeltük. A 30 napon át, napi kétszeri adagolás mellett a 0.25 mg/kg dózisban alkalmazott TT-232 hatására 200 napon túl követett túlélés mellett a kezelt állatok közel 40%-a (3/8) vált tumormentessé. A TT-232 0.5 mg/kg dóziséval kezelt csoport 25%-a (2/8) lett tumormentes (ugyancsak 200 napon túli túléléssel), a 107 napos átlagélettartamú kontroll csoporttal szemben.

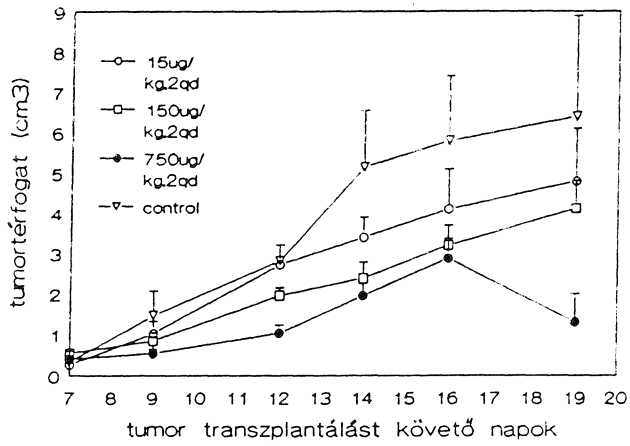
Mivel korábbi in vitro vizsgálataink szerint a TT-232 kevésbé hatott a prosztatatumorra, mint az emlőtumorra ezért a PC3 prosztatatumor esetében a kezeléseket magasabb dózisokkal végeztük (5, 10 és 20 mg/kg). 20 mg/kg dózisú háromhetes kezelés esetében 60%-os tumorgátlást tapasztaltunk, alacsonyabb dózisok kevésbé gátolták a tumor növekedést (5. ábra). A transzplantálás után 60 nappal a 20 mg/kg dózisban alkalmazott TT-232 hatására a túlélés 100%-os volt, a mindössze 20%-os túlélést mutató kontroll csoporthoz viszonyítva. Túlélés alapján a további dóziscsoportok (egyformán 60%-os túlélés) tumorgátló hatása

**TT-232 kezelés hatása transzplantált
Colon 26 tumor növekedésére**



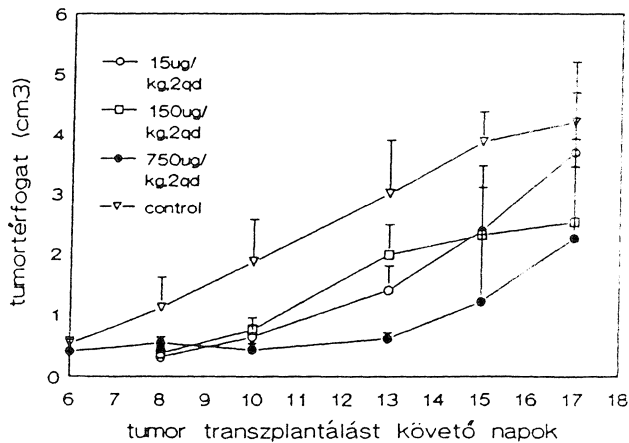
1. ábra

**TT-232 kezelés hatása transzplantált
B 16 melanoma növekedésére**



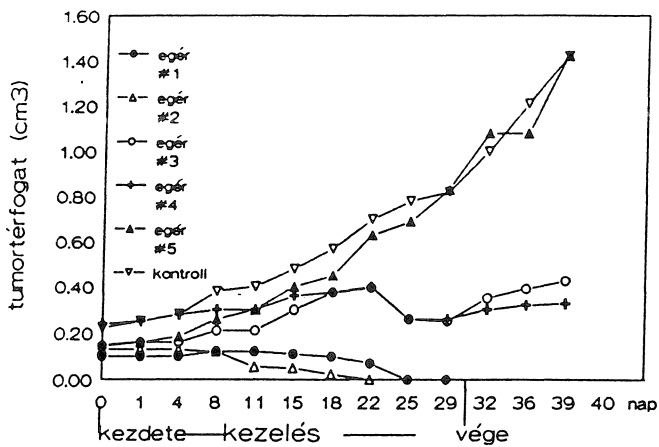
2. ábra

**TT-232 kezelés hatása transzplantált
S 180 sarcoma tumor növekedésére**

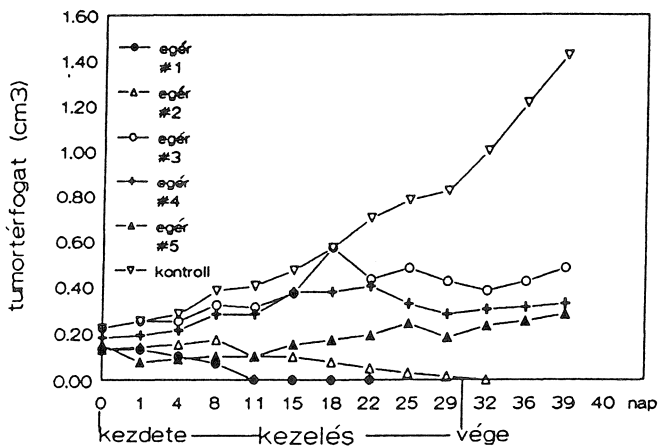


3. ábra

TT-232 kezelés hatása az MDA-MB 231 emlőtumor növekedésére (dózis:0.25mg/kg)

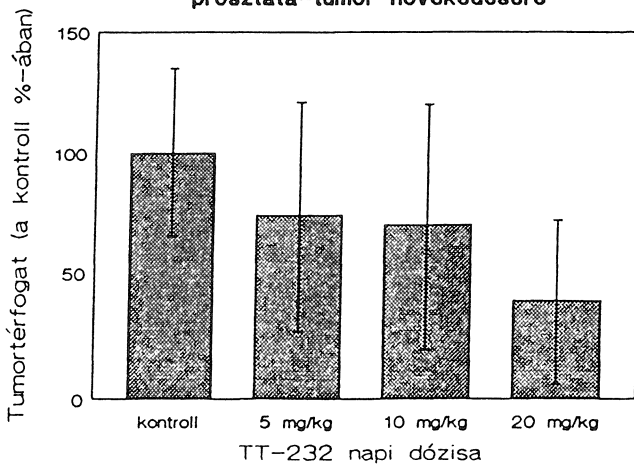


TT-232 kezelés hatása az MDA-MB 231 emlőtumor növekedésére (dózis: 0.5mg/kg)



4. ábra

TT-232 kezelés hatása PC-3 humán prosztata-tumor növekedésére



5. ábra

között különbség nem tartozott. Ezekből az első kísérletekből úgy tűnik, hogy a 20 mg/kg napi dózis egyszeri alkalmazásban hatásosabb, mint a napi kétszeri, ún. osztott adagolás esetén.

A TT-232-vel végzett toxikológiai vizsgálatok eredményei

A TT-232 eseteiben a túlélés/pusztulás aránya alapján értékelhető un. LD értékeket megállapítani nem lehetett. Pusztulást ugyanis még az igen magas, 120 mg/kg dózissal sem tudtunk elérni, a dózistól függően mindössze 5-10%-os, átmeneti testsúlycsökkenést lehetett megfigyelni. A TT-232 szignifikánsan növelte az uterusok súlyát (kb. 70%), a tüdők esetében pedig kisebb mértékű súlycsökkenés (kb. 30%) volt megfigyelhető. A többi vizsgált szerv (szív, máj, lép, vesék, timus) súlyát a kezelés gyakorlatilag nem befolyásolta. A széles dózistartományban (1-120 mg/kg) alkalmazott TT-232 kezelések a hematológiai paraméterek és a kvalitatív vérkép értékeit nem befolyásolták. A csontvelő analízis adatai arra utalnak, hogy a TT-232 igen magas dózisban (120 mg/kg) sem toxikus a csontvelő sejtjeire. A TT-232-vel kezelt egerek szerveiből végzett szövettani vizsgálatok nem mutattak toxikus hatásra utaló jelentősebb elváltozásokat. A magas dózissal kezelt állatok uterusában és lépében hyperplasiát lehetett esetenként megfigyelni.

A TT-232 szelektivitását igazoló kísérletek

Korábban már beszámoltunk arról, hogy in vitro 10^{-8} M-s koncentrációban a TT-232 nem gátolta a GHRH indukálta GH felszabadulást, patkányokban in vivo a kezdeti szérum GH szintek nem csökkentek 1 illetve 4 μ g/100 g-os dózisu TT-232-vel történő kezelést követően (12,13,14).

Vizsgáltuk a TT-232 kötődését patkány hipofízis és agykéreg membránpreparátumhoz, a Sandostatinnal ellentétben, mely képes leszorítani a [125 I]Tyr³-mal jelzett Sandostatint, a TT-232 sem a hipofízis, sem az agykéreg receptoraihoz nem kötődött. Ez a megfigyelés jó egyezést mutat azzal az eredménnyel, hogy a TT-232 nem befolyásolta a növekedési hormon felszabadulást.

Az irodalomban már beszámoltak arról, hogy a szomatosztatin gátolja a gyomorsav szekréciót (2). Vizsgáltuk a TT-232 hatását a gyomorsav szekrécióra pentagasztrin stimulálta egerekben és összehasonlítottuk két un. tradicionális szomatosztatin analóg (RC 160 és TT-248) hatásával. A TT-232, szemben a két analóggal, nem gátolta a gyomorsav szekréciót.

A TT-232 hatásmechanizmusának vizsgálata

Újabbban egyre szélesebb körben tanulmányozzák a peptidhormonok tumorgátló hatásában az apoptózis (programozott sejthalál) szerepét (17,27).

Kísérleteinkben azt találtuk, hogy a TT-232 serkenti az apoptózist humán vastagbél (HT-29 és SW620), hasnyálmirigy (P-818), leukémia (K-562), melanoma (WM 938/B, M-1, EP) és limfóma tumor sejtvonalakban. Az apoptózis jelenségét fény-és elektronmikroszkóppal valamint immunhisztokémiai módszerekkel vizsgáltuk. Azt tapasztaltuk, hogy a nagyfokú sejtosztódásgátlást számottevő sejt számcsökkenés (aktív sejthalál) is kísérte. Korábbi kísérleteinkben már kimutattuk, hogy a TT-232 hatása SW620 humán vastagbél tumorsejtekre függött az alkalmazott dózistól és a kezelés idejétől (12). Ugyanezen a sejtvonalon az apoptózis jelenségét vizsgálva a TT-232-es kezelés szintén idő és dózis függő volt (6. ábra). Különböző tumorsejtvonalakon 48 órás 10 µg/ml dózisú TT-232 kezelés hatására különböző mértékű apoptózist figyeltünk meg (7. ábra). Néhány sejtvonalnál tovább növelve a TT-232 dózist és a kezelés idejét a sejtek lizist tapasztaltuk, mely valószínűleg az apoptózis következménye.

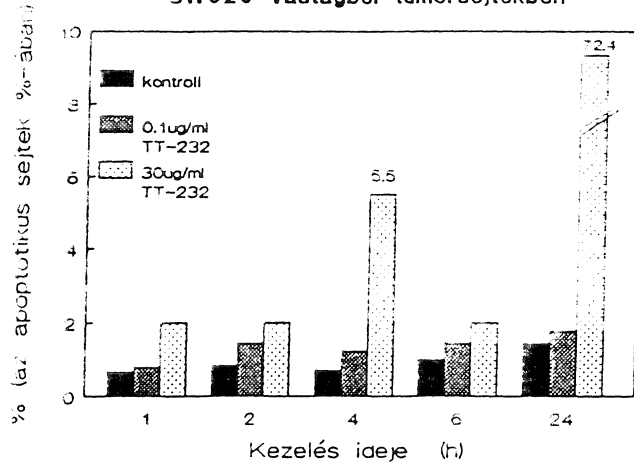
A TT-232 SW620 vastagbél sejtvonalban 24 órás kezelést követően 75%-os tirozin kináz gátlást eredményezett (8. ábra), ez a hatás jó összhangban van a TT-232 korábban megfigyelt sejtosztódást gátló, és apoptózist serkentő hatásával.

MDA-MB-453 humán emlőtumorsejtek különböző dózisú TT-232-vel, illetve Sandostatinnal történt kétórás kezelése után a sejtek foszfotirozin tartalmának csökkenését lehetett megfigyelni. TT-232-es kezelés hatására, 30 µg/ml dózis esetében, a gélelektroforézis során nem lehetett foszfotirozinra utaló sávot találni, a Sandostatin is csökkentette a sejtek foszfotirozin tartalmát, de sokkal kisebb mértékben.

A TT-232-vel végzett stabilitási vizsgálatok

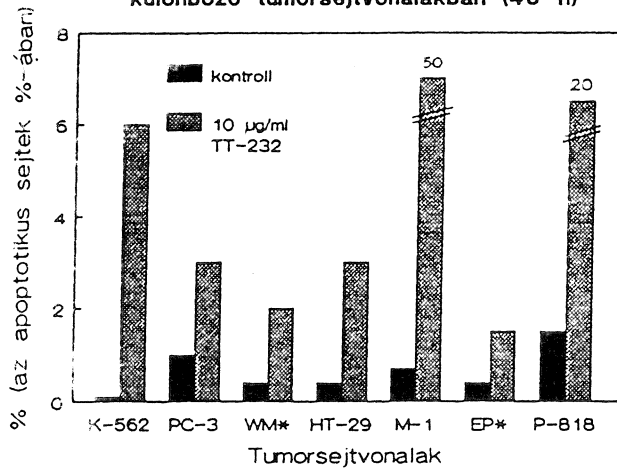
Vizsgáltuk a TT-232 stabilitását mind szilárd (liofilizátum), mind vizes oldat formájában különböző időpontokban és hőmérsékleten. Az anyag és a lebomlási termékek analízisére a HPLC módszerét használtuk (28). Szobahőmérsékleten szilárd formában legalább 36 napig, steril vizes oldatban 0^o-on legalább 40 napig, szobahőmérsékleten 35 napig és 37^o-on 2 napig bizonyult stabilnak.

TT-232 apoptózist indukáló hatása SW620 vastagbél-tumorsejtekben



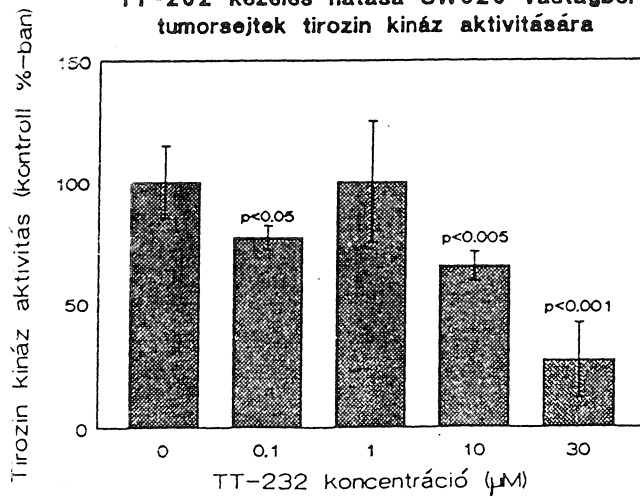
2. ábra

TT-232 apoptózist indukáló hatása különböző tumorsejtvonalakban (48 h)



2. ábra

TT-232 kezelés hatása SW620 vastagbél tumorsejtek tirozin kináz aktivitására



3. ábra

AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

Laboratóriumunkban évek óta foglalkozunk szomatosztatin analógok szintézisével. Kutatásaink során kifejlesztettünk egy szerkezetében és hatásában is egyedülálló tumorszelektív analógot (TT-232).

A TT-232 hosszan tartó inkubálást követően gátolja a proliferációs jeltovábbítási mechanizmusokban fontos szerepet játszó tirozin kináz enzim működését. Ez a megfigyelés jó korrelációt mutatott a TT-232 daganatos sejteken megfigyelt dramatikus sejtosztódást gátló, valamint a peptid apoptózist (programozott sejthalált) indukáló hatásával. A TT-232 aktiválja a tirozin foszfataz enzim működését. Ugyanakkor ez a peptid növekedési hormon felszabadulást gátló hatást sem *in vitro*, sem *in vivo* nem mutat.

A tirozin kináz gátlásnak az apoptózis indukálásában betöltött szerepét egyre több eredmény mutatja. Legújabb vizsgálataink azt bizonyították, hogy egy EGF receptor szelektív tirozin kináz gátló nem-apoptotikus programozott sejthalált indukált, ezzel szemben egy nem szelektív tirozin kináz gátló apoptózist indukált (29). Azok az eredményeink, hogy a TT-232 csökkentette az MDA MB-453 emlőtumorsejtek foszfortirozin tartalmát, melyek az EGF receptor család harmadik tagját, Her3 receptorokat tartalmaznak (30), megerősítik azt a koncepciónkot, hogy a TT-232 tirozin kináz gátlás és ezzel korreláló programozott sejthalál indukálásával fejt ki sejtosztódást gátló hatását. Fontos megjegyezni, hogy az 1994-ben leírt Ku80 magfehérje, mely szabályozza a p53 antionkogén expressziót és az apoptózist, szintén egy szomatosztatin receptor (31). A TT-232 indukálta apoptózis arra enged következtetni, hogy a növekedést kiváltó tirozin kináz jel gátlása egy apoptikus végű sejtciklus indukálásához vezethet.

Az a kísérleti eredmény, hogy hosszan tartó kezelés esetén (24h) tirozin kináz gátlást, rövid kezelés esetén tirozin foszfataz aktiválást (20) figyeltünk meg valószínűleg két független jeltovábbítási mechanizmus szerepét bizonyítja a TT-232 hatásában.

Eredményeink azt mutatják, hogy a TT-232 leghatásosabban az emlő-, prosztatata-, leukémia-, és vastagbél-tumorsejtek osztódását gátolta, azaz ezen tumorok kezelését lenne érdemes megcélozni ezzel a szomatosztatin analóggal.

Az eddigi *in vivo* kísérletek során már viszonylag kis dózisban alkalmazva a TT-232-t is erős antitumor hatást tapasztaltunk. A toxicitás vizsgálatok azt mutatták, hogy még 120 mg/kg esetében sincsenek toxikus mellékhatásai a TT-232-nek, azaz a dózist növelve adott a lehetőség, hogy még jobb eredményeket érjünk el.

Eredményeink világosan mutatják, hogy a TT-232-nek erős és szelektív tumorelles hatása van. Mivel nincsenek endokrin mellékhatásai és nem toxikus sem *in vitro*, sem *in vivo*, viszonylag nagy dózisban alkalmazható ezzel teljesen kihasználva az anyag drámai sejtosztódást gátló és apoptózist indukáló hatását.

Összefoglalva, a TT-232-nek igen jó esélye van arra, hogy egy potens. szelektív daganatellenes gyógyszeré váljon.

HIVATKOZÁSOK

1. Brazeau, P., Vale, W., Burgus, R., Ling, N., Butcher M., Rivier, J., Guillemin, R. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science*, 179: 77-79, 1973.
2. Reichlin, D. Somatostatin. *N. Engl. J. Med.*, 309: 1495-1501, 1983.
3. Moreau, S. C., Murphy, W. A., Coy, D. H. Comparison of Somatuline (BIM-23014) and Somatostatin on Endocrine and Exocrine Activities in the Rat. *Drug Develop. Research*, 22: 79-93, 1991.
4. Dorflinger, L. J., Schönbrunn A. Somatostatin inhibits basal and vasoactive intestinal peptide-stimulated hormone release by different mechanisms in GH pituitary cells. *Endocrinology*, 113: 1551-1558, 1983.
5. de Weille, JR., Schmid-Antomarchi, H., Fosset, M., Lazdunski, M. Regulation of ATP-sensitive K⁺ channels in insulinoma cells: Activation by somatostatin and protein kinase C and the role of cAMP. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86: 2971-2975, 1989.
6. Hsu, W. H., Xiang, H., Rajan, A. S., Kunze, D. L., Boyd, A. E. Somatostatin inhibits insulin secretion by a G-protein-mediated decrease in Ca⁺⁺ entry through voltage dependent Ca⁺⁺ channels in the beta cell. *J. Biol. Chem.*, 266: 837-843, 1991.
7. Pan, M. G., Florio, T., Stork, P. J. G-protein activation of a hormone stimulated phosphatase in human tumor cells. *Science*, 256: 1215-1217, 1992.
8. Colas, B., Cambillau, C., Buscail, L., Zeggari, M., Esteve, J.P., Lautre, V., Thomas, F., Vaysse, N., Susini, C. Stimulation of a membrane tyrosine phosphatase activity by somatostatin analogues in rat pancreatic acinar cells. *Eur. J. Biochem.*, 207: 1017-1024, 1992.
9. Setyono-Han, B., Henkelman, M. S., Foekens, J. A., Klijn, J. G. M. Direct inhibitory effects of somatostatin (analogues) on the growth of human breast cancer cells. *Cancer Research*, 47: 1566-1570, 1987.
10. Schally, A. V. Oncological applications of somatostatin analogues. *Cancer Research*, 48: 6977-6985, 1988.
11. Bogden, A. E., Taylor, J. E., Moreau, J-P., Coy, D. H., LePage, D. J. Response of Human Lung Tumor Xenografts to Treatment with a Somatostatin Analogue (Somatuline). *Cancer Research*, 50: 4360-4365, 1990.
12. Kéri, Gy., Mezô, I., Horváth, A., Vadász, Zs., Balogh, A., Idei, M., Vántus, T., Teplán, I., Mák, M., Horváth, J., Pál, K., Csuka, O. Novel somatostatin analogs with tyrosine kinase inhibitory and antitumor activity. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 191: 681-687, 1993.
13. Kéri, Gy., Mezô, I., Horváth, A., Vadász, Zs., Teplán, I., Balogh, A., Csuka, O., Bökönyi, Gy., Szoke, B., Horvath, J., Idei, M., Seprodi, J. Novel tumor growth inhibiting somatostatin analogs, pharmaceutical compositions containing them and process for preparing same. *EC patent Cat. No.:0505680/1995, US patent Serial No.:08/233558/1995.*
14. Kéri, Gy., Mezô, I., Vadász, Zs., Horváth, A., Idei, M., Vántus, T., Balogh, A., Bökönyi, Gy., Bajor, T., Teplán, I., Tamás, J., Mák, M., Horváth, J., Csuka, O. Structure - activity relationship studies of novel somatostatin analogs with antitumor activity. *Peptide Research*, 6: 281-288, 1993.
15. Horváth, A., Jaspers, H., Kéri, G., Mezô I., Van Binst, G. Conformations of somatostatin analogues having antitumor activity. *In: C.H. Schneider and A.N. Eberle (eds.), Peptides 1992*, pp. 533-534, ESCOM Science Publishers B.V., 1993.

16. Jaspers, H., Horváth, A., Mezô, I., Kéri, G., Van Binst, G. Conformational study of a series of somatostatin analogues with antitumor and/or GH inhibitory activity. *Int. J. Peptide Protein Res.*, 43: 271-276, 1994.
17. Szende, B., Szegedi, Zs., Ladányi, A., Mihalik, R., Kéri, Gy., Lapis, K., Schally, A. V. Enhancing effect of peptide hormones on apoptosis. *Cell Proliferation*, 25: 488, 1992.
18. Szende, B., Zalatnai, A., Schally, A.V. Programmed cell death (apoptosis) in pancreatic cancers of hamsters after treatment with analogs of both luteinizing hormone-releasing hormone and somatostatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 1643-1647, 1989
19. Kéri, Gy., Mezô, I., Horváth, A., Vadász, Zs., Balogh, A., Idei, M., Vántus, T., Teplán, I., Horváth J., Szende, B. Novel somatostatin analogs with antitumor activity. *In: N. Yanaihara (ed.), Peptide Chemistry 1992*, pp. 334-336, Leiden: ESCOM Science Publishers B.V., 1993.
20. Vántus, T., Csermely, P., Teplán, I., Kéri, Gy. Somatostatin analog, TT-32 induces biphasic activation of phosphotyrosine phosphatase in human colon tumor cell line, SW620. *Tumor Biology*, 16: 261-267, 1995.
21. Kéri, Gy., Mezô, I., Horváth, A., Vadász, Z., Balogh, Á, Vántus, T., Teplán, I., Horváth, J., Szende, B. Novel Somatostatin analogs with antitumor activity. *In: C.H. Schneider and A.N. Eberle (eds.), Peptides 1992*, pp. 105-106, ESCOM Science Publishers B.V., 1993.
22. Mezô, I., Kéri, G., Vadász, Z., Horváth, A., Idei, M., Balogh, Á., Vántus, T., Teplán, I., Horváth, J. New somatostatin analogs with selective biological activity. *In: C.H. Schneider and A.N. Eberle (eds.), Peptides 1992*, pp. 743-744, ESCOM Science Publishers B.V., 1993.
23. Kéri, Gy., Vántus, T., Horváth, A., Mezô, I., Erchegeyi, J., Vadász, Z., Bokonyi, Gy., Teplán, I., Gal, D., Szende, B. and Csuka, O. Mechanism of action of a tumor-selective somatostatin analog: TT-232. *In: H.L.S. Maia (ed.), Peptides 1994*, pp. 141-142, ESCOM Science Publishers B.V., 1995.
24. A. Balogh, O. Csuka, I. Teplán, Gy. Kéri. Phosphatidylcholine could be the source of 1,2-DAG which activates protein kinase C in EGF-stimulated colon carcinoma cells (HT29). *Cellular Signalling* 7: in press , 1995.
25. Cai, R.-Z., Szoke, B., Lu, R., Fu, D., Redding, T. W., Schally A. V. Synthesis and biological activity of highly potent octapeptide analogs of somatostatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83: 1896-1900, 1986.
26. Bauer, W., Briner, U., Doepfner, W., Haller, R., Huguenin, R., Marbach, P., Petcher, T. J., and Pless, J. SMS-201-995: a very potent and selective octapeptide analogue of somatostatin with prolonged action. *Life Sci.*, 31: 1133-1140, 1982.
27. Szende, B., Takács, J., Mezô, I., Szegedi, Zs., Kéri, Gy. Binding of a radiolabeled tumor selective GnRH analog to PC-3 human prostate cancer cells and the induction of apoptosis. *Endocrine* 2: 645-649, 1994.
28. Szôke, B., Kéri, Gy., Idei, M., Horváth, A., Bökönyi, Gy., Teplán, I. Investigation of the chemical stability of (D-Phe⁶, Gln⁸) GnRH (1-9)-ethylamide (FOLLIGEN[®]) by HPLC method. *J. of Chromatography*, 547: 121-129, 1991.
29. Szende, B., Kéri, Gy., Szegedi, Zs., Benedeczy, I., Csikós, A., Órfi, L., Gazit, A. Tyrphostin induces non-apoptotic programmed cell death in colon tumor cells. *Cell Biology International* in press, 1995.
30. Kraus, M.H., Issing, W., Miki, T., Popescu, N.C., Aaronson, S.A. Isolation and characterization of ERBB3, a third member of the ERBB/epidermal growth factor receptor family: Evidence for overexpression in a subset of human mammary tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 9193-9197, 1989.
31. Romancer, M.L., Reyl-Desmars, F., Cherifi, Y., Pigeon, C., Bottari, S., Meyer, O., Lewin, M.J.M. The 86-kDa Subunit of Autoantigen Ku Is a Somatostatin Receptor Regulating Protein Phosphatase-2A Activity. *J. Biol. Chem.*, 269: 17464-17468, 1994.

Tumorellenes szer (daunomicin) - elágazó láncú polipeptid konjugátumok szintézise és jellemzése

Hudecz Ferenc

MTA Peptidkémiai Kutatócsoport, ELTE

Budapest 112, Pf. 32, H-1518

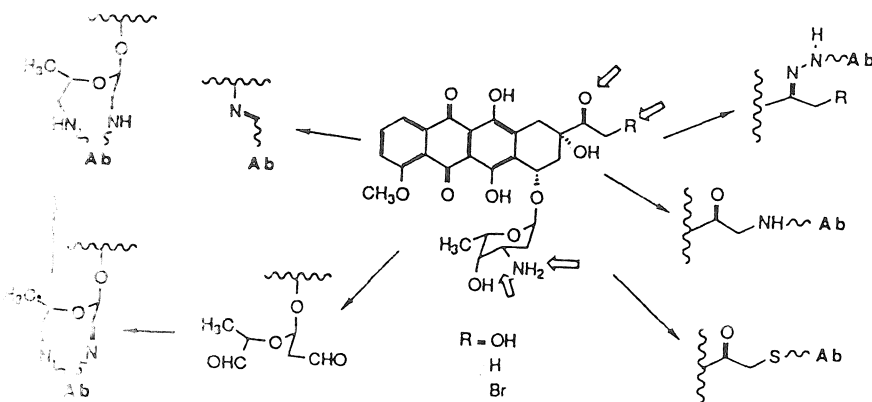
Fax: 2090602, E-mail:fhudecz@ludens.elte.hu

Az elmúlt években kutatócsoportunk arra törekedett, hogy a korábban általunk kifejlesztett elágazó láncú, szintetikus polipeptid család (1,2) segítségével meghatározza azokat a szerkezeti paramétereket, amelyek alapján racionálisan tervezett makromolekuláris hordozók felhasználásával gyógyszerek, elsősorban tumorellenes szerek szelektív célbajuttatása (targeting/delivery) és/vagy elnyújtott hatásv (sustained release) származékok (3-5) előállítására lehetségessé válik. E célból különböző - bizonyítottan vagy potenciálisan - tumorellenes szereket pl. daunomicin [Dau] (6), methotrexat [MTX] (7), bór származékokat (8) vagy GnRH antagonistát (9), újabban pedig enziminhibitorokat (többek között ϵ -aminokapronsavat) kapcsoltunk különböző, de szerkezetileg egymással rokonságban álló, nagy molekulatömegű (> 20 000) elágazó láncú polipeptidekhez. E makromolekulák primer szerkezetét (az oldalláncok összetétele és aminosavsorrendje) (10-12), oldatbeli konformációját (13,14), immunológiai (15,16) és farmakológiai (pl. enzimatis lebon-tás, biodisztribúció, toxicitás) tulajdonságait részletesen jellemeztük (17-19). E rövid összefoglalóban a daunomicint tartalmazó konjugátumok szintézisével és jellemzésével kapcsolatos néhány eredményre kívánom az olvasó figyelmét felhívni.

Szintézis

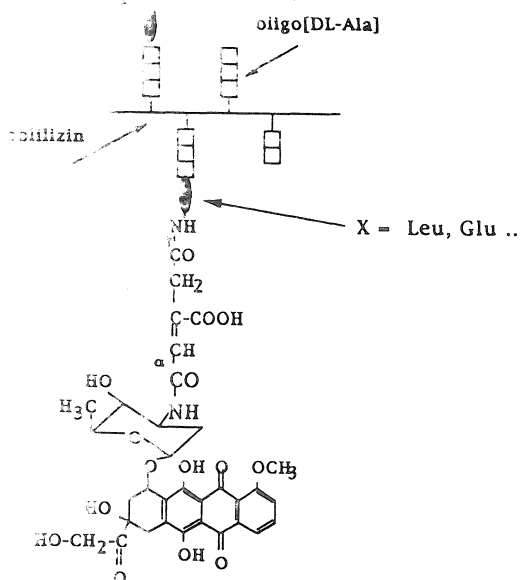
A daunomicint főleg mellékhatásainak (pl. kardiotoxicitás) csökkentése érdekében többféle szintetikus maromolekulához kapcsolták kovalens kötés kiépítésével. E célra a poli- α -aminosavakon kívül (poli[Lys] (20-22), poli[Asp] (23), poli[Glu] (24), poli[Glu(N₂H₃)] (25), dextrán (26), poli[divinil éter-co-maleinsav anhidrid]-et (27), N-(2-hidroxipropil)-metacrilamidot (HPMA) (28) vagy poli[acriloil-2-amido-2-(hidroximetil)-1,3-propándiolt (29) használtak. A szintéziseknél alkalmazott stratégiák három csoportba sorolhatók (1.ábra) i) a daunozamin α -amino csoportjának acilezése a polimer karboxilcsoportjainak anhidrid (27) vagy aktiv észter származékával (28) vagy kondenzáló szer (pl. karbodiimid) (24) felhasználásával; ii) az aminocukor gyűrű C-3 és C-4 közötti kötésének felhasítása (26); iii) az aglikon rész metilketon oldallánc 14-bróm származékának nukleofil szubsztitúciója (22,23,25). Olyan konjugátumok is készültek, amelyekben a makromolekuláris hordozó és a daunomicin között leucil, aszpartil (29), maleil, *cis*-akonitil (30), szukcinil (31) molekularészletek helyezkednek el.

Munkánk során a daunomicint - savérzékeny kötés kialakítására alkalmas (30) - *cis*-akonitil származékként (cAD) kapcsoltuk különböző oldallánc felépítésű polipeptidekhez. A konjugátumok

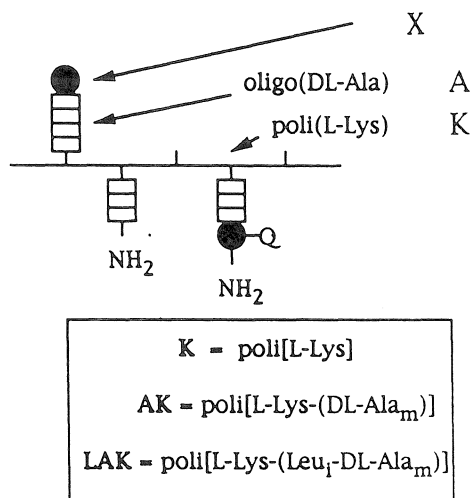


1. ábra. Daunomicin kapcsolása makromolekulákhoz. Upešlaciš J. (In: Saltzman N, ed. *Annual Reports in Medicinal Chemistry* New York: Academic Press, 1988: 151-60) alapján.

A egyszerűsített szerkezetét a 2. ábra mutatja be. Az oldalláncvégeken elhelyezkedő aminosavrészek milyensége alapján kationos (X = Leu, Phe, Pro stb) vagy amfoter (X = Glu) sajátosságú konjugátumokhoz jutottunk. [A polipeptid hordozó szerkezetének leírására bevezetett rövidítést a 3. ábra összefoglalja.] Az általunk kidolgozott és protein - cAD származékok előállítására is kipróbált eljárással az aminoscsoportok 20-30 %-át lehet acilezni.



2. ábra. A cAD-EAK konjugátum egyszerűsített szerkezte.



3. ábra. Az elágazó láncú polipeptidek szerkezetének rövidített írásmódja.

Kémiai jellemzés

A biológiai vizsgálatok szempontjából fontos volt annak ellenőrzése, hogy a konjugátumban van-e szabad cAD/Dau. Mivel az irodalomban erre a problémára kidolgozott módszert nem találtunk, a gélszűrőssel tisztított konjugátumok szabad cAD/Dau tartalmának meghatározására új, RP-HPLC eljárást dolgoztunk ki (300 Å, C18 oszlop, izokratikus elució) (6). A konjugátumok összetételét, a szubsztitúció mértékét UV spektroszkópiai mérések és az aminosavösszetétel meghatározása alapján határoztuk meg.

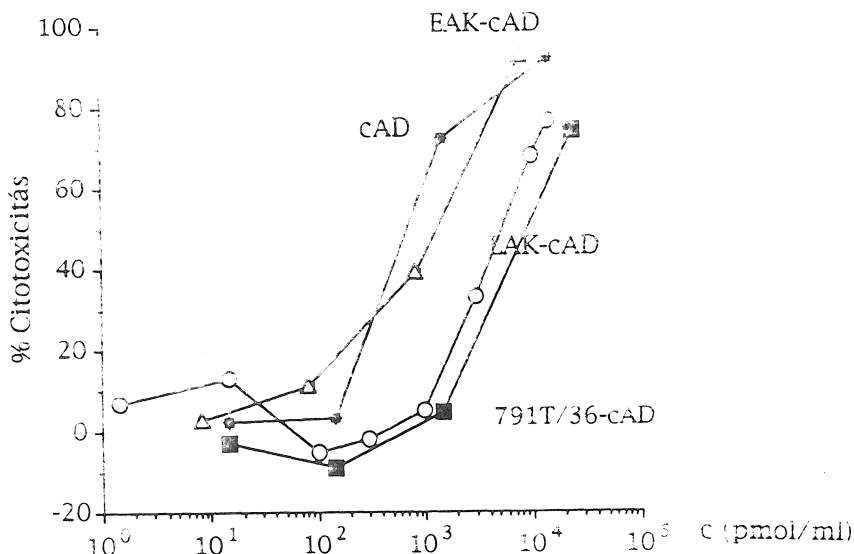
A cAD-elágazó láncu polipeptidek oldatbeli konformációját CD spektroszkópiával tanulmányoztuk a 190-250 nm hullámhossz tartományban. Megállapítottuk, hogy fiziológiai körülmények között - a polipeptid komponens oldallanc-szerkezetétől függően - jelentős különbségek észlelhetők a cAD-konjugátumok térszerkezetében. A polikationos konjugátumok (pl. EAK-cAD) a 0,15 M NaCl oldatban rendezett konformációt vesznek fel, ugyanakkor az amphoter sajátosságú polipeptidet tartalmazó variáns (EAK-cAD) CD spektruma rendezetlen felületi rendeződésre utal. A CD spektrumból a konjugátumban található kromofor tartomány (200-400 nm-es tartományban) elhelyezkedéséből következtetni lehetett a polipeptidhez kapcsolódó kationos csoportok intramolekuláris kölcsönhatására is.

Biológiai jellemzés

A konjugátumok *in vitro* citotoxicitását osteosarcoma sejtvonalon (791T) tanulmányoztuk (6). Az összehasonlító vizsgálatok során kontrollként szabad cAD/Dau, szabad polipeptid illetve cAD-protein konjugátumok (BSA-cAD, cAD-IgG [sejtvonal specifikus monoclonális ellenanyag 791T/36]) szerepeltek. Megállapítottuk, hogy a daunomicin kapcsolása proteinhez vagy szintetikus polipeptidekhez általában jelentősen csökkenti a szer sejtpusztító hatását. Hasonló megfigyelések az irodalomban is ismertek, más tumorgátló szer - protein kombinációk esetében (6,11,12).

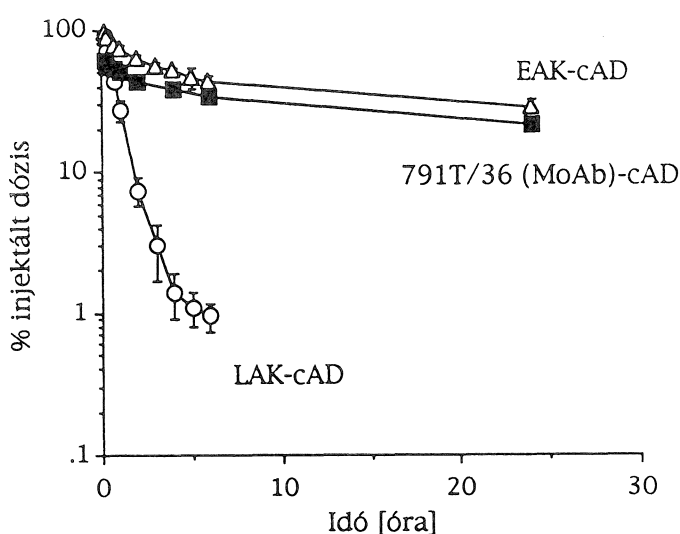
Ugyanakkor e vizsgálat sorozat egyértelműen kimutatta, hogy a) a Dau citotoxikus aktivitásának képest már a cAD származék is jelentősen kisebb hatás kifejtésére képes; b) az *in vitro* toxicitás csökkenés mértéke jelentősen függ az alkalmazott polipeptid horgozó szerkezetétől (4. ábra).

A polikationos LAK-cAD konjugátum - hasonlóan a cAD-monoklonális ellenanyag származékhoz (791T/36-cAD) - egy nagyságrenddel kevésbé hatásos, mint a szabad cAD. Ugyanakkor az amphoter, Glu-t tartalmazó EAK-cAD konjugátum citotoxicitása *in vitro* majdnem eléri a cAD által kifejtett sejtpusztító hatást. Ezek az adatok arra utalnak, hogy a makromolekula komponens szerkezetének megváltoztatásával lehetőség van az *in vitro* toxicitás befolyásolására.



4.ábra. cAD-polipeptid/protein konjugátumok *in vitro* citotoxikus hatása 791T osteosarcoma sejteken.

Az in vivo alkalmazás szempontjából fontos szempont a konjugátumok szerkezetbeni sorsának, biodisztribúciójának vizsgálata. Ezért - a Nottinghami Egyetemen működő Cancer Research Campaign munkatársaival közösen - először egészséges egereken végeztünk kísérleteket. Az i.v. beadott radioaktív izotóppal jelzett cAD-polipeptid/protein konjugátumok vérkeringésbeli jelenlétét, ennek kinetikáját, valamint a radioaktivitás 24 h utáni eloszlását vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a polipeptid hordozó szerkezete jelentős mértékben meghatározza a konjugátumok keringésből történő távozását (5.ábra).



5.ábra. ^{125}I -dal jelzett cAD-polipeptid/protein konjugátumok távozása a keringésből egerek i.v. kezelését követően.

A polikationos sajátosságú hordozót tartalmazó származékok, amelyeket az 5. ábrán a Leu tartalmú LAK-cAD reprezentál, gyorsan távoznak a keringésből. Viszont az amfoter karakterű konjugátumok (pl. EAK-cAD) - hasonlóan egy monoklonális IgG -cAD konjugátumhoz - lényegesen hosszabb ideig maradnak a vérkeringésben. A fenti, valamint a szervezetszervi vizsgálatok eredményei alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a hordozó szerkezet és a konjugátum biodisztribúciós paraméterek között szoros összefüggés van. Ezen összefüggések feltárása lehetővé teheti olyan cAD-polipeptid hordozó - vagy általánosabban, gyógyszermolekula - polipeptid hordozó - konjugátumok tervezését és előállítását, amelyeknek segítségével kedvezőbb terápiás hatás elérése valósulhat meg.

Összefoglalás, kitekintés, köszönetnyilvánítás

E dolgozatban röviden és vázlatosan ismertetett alapvető kísérletek eredményei alapján kiválasztásra került a cAD-EAK konjugátum. Dr Gáál Dezső (Országos Onkológiai Intézet) tumoros állatokon folytatott eddigi vizsgálatai igen biztatóak. A hordozóhoz kapcsolt daunomicint az állatok jóval nagyobb dózisban tolerálják, mint a szabad vegyületet és egyszeri kezelést követően - a kontrollhoz képest - jelentős mértékű túlélés tapasztalható.

E munka nem kerülhetett volna jelen fázisba Dr Szekerke Mária sokévtizedes, iskolateremtő munkássága nélkül. A munkában résztvevők köszönik az OTKA (3024, T-4217, T014964) és a Népjóléti Minisztérium (ETT T405 és 017/1993) többéves támogatását.

Irodalom

1. Hudecz F, Votavova H, Gaál D, Sponar J, Kajtár J, Blaha K, Szekerke M. Branched polypeptides with a poly(L-lysine) backbone: synthesis, conformation and immunomodulation. In: Gebelein ChG, Carraher ChE, eds. *Polymeric Materials in Medication*. New York: Plenum Press, 1985:265-89.
2. Hudecz F. Design of synthetic branched-chain polypeptides as carriers for bioactive molecules. *Anti-Cancer Drugs*. 1995; 6: 171-193.
3. Friend DR, Pangburn S. Site-specific drug delivery. *Medicinal Research Reviews*. 1987; 7:53-106.
4. Duncan R. Drug-polymer conjugates: potential for improved chemotherapy. *Anti-Cancer Drugs* 1992; 3: 153-6.
5. Maeda H, Seymour LW, Miyamoto Y. Conjugates of anticancer agents and polymers: advantages of macromolecular therapeutics in vivo. *Bioconjugate Chem*. 1992; 3: 351-362.
6. Hudecz F, Clegg JA., Kajtár J, Embleton MJ, Szekerke M, Baldwin RW. Synthesis, conformation, biodistribution and in vitro cytotoxicity of daunomycin-branched polypeptide conjugates. *Bioconjugate Chem*. 1992; 3: 49-57.
7. Hudecz F, Clegg JA, Kajtár J, Embleton MJ, Pimm MV, Szekerke M, Baldwin RW. Influence of carrier on biodistribution and in vitro cytotoxicity of methotrexate-branched polypeptide conjugates. *Bioconjugate Chem*. 1993; 4: 25-33.
8. Szekerke M, Mező G, Hudecz F, Kajtár J, Bitter I, Töke L. Application of branched polypeptides as intermediate carriers to target combinations of boron-10 compounds with monoclonal antibodies. *Macromolecules '89: Functional Polymers and Biopolymers*, Oxford 1989; 173-4.
9. Vincze B, Pályi I, Daubner D, Kálnay A, Mező G, Hudecz F, Szekerke M, Teplán I, Mező, I. Antitumor effect of a GnRH antagonist and its conjugate on human breast cancer cells and their xenografts. *J.Cancer Res. and Clin.Oncol*. 1994; 120: 578-84
10. Hudecz F, Szekerke M. Investigation of drug-protein interactions and the drug-carrier concept by the use of branched polypeptides as model systems. Synthesis and characterisation of the model peptides. *Coll. Czech. Chem. Commun*. 1980; 45: 933-40.
11. Hudecz F, Kovács P, Kutassi-Kovács S, Kajtár J. GPC, CD and sedimentation analysis of poly-Lys and branched chain poly-Lys--poly-DL-Ala polypeptides. *Colloid and Polymer Sci*. 1984; 262: 208-12.
12. Hudecz F, Dibó,G., Kovács, P., Szókán Gy., Szekerke M. Side chain distribution and enantiomer composition of biodegradable of synthetic branched polypeptide with poly(L-lysine) backbone. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 1992; 373: 337-42.

13. Mezö G, Hudecz F, Kajtár J, Szókán Gy, Szekerke M. The influence of the side chain sequence on the structure-activity correlations of immunomodulatory branched polypeptides. *Biopolymers* 1989; 28:1801-26.
14. Mezö G, Kajtár J, Hudecz F, Szekerke M. Carrier design: conformational studies of amino acid (X) and oligopeptide (X-DL-Ala_m) substituted poly[L-lysine] *Biopolymers* 1993; 33: 873-885.
15. Rajnavölgyi É, Hudecz F, Mezö G, Szekerke M, Gergely J. Isotype distribution and fine specificity of the antibody response of inbred mouse strains to four compounds belonging to a new group of synthetic branched polypeptides. *Mol. Immunol.* 1986; 23: 27-37.
16. Gaál D, Hudecz F, Szekerke M. Immunomodulatory effect of synthetic branched polypeptides. I. *J. Biol. Response Modifiers* 1984; 3: 174-84.
17. Hudecz F, Kutassi-Kovács S, Mezö G, Szekerke M. Biodegradability of synthetic branched polypeptide with poly(L-lysine) backbone. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 1989; 370: 1019-26 .
18. Hudecz F, Gaál D, Kurucz I, Lányi Á, Kovács AL, Mezö G, Rajnavölgyi É, Szekerke M. Carrier design: cytotoxicity and immunogenicity of synthetic branched polypeptides with poly(L-lysine) backbone. *J. Controlled Release* 1992; 19: 231-43.
19. Clegg JA, Hudecz F, Pimm M, Baldwin RW. Carrier design: biodistribution of branched polypeptides with poly-(L-lysine) backbone. *Bioconjugate Chem.* 1990; 2: 425-30.
20. Arnold LJ, Jr. Polylysine-drug conjugates. *Methods Enzymol.* 1985; 112: 270-85.
21. Shen WC, Ryser HJP. cis-Aconityl spacer between daunomycin and macromolecular carriers: a model of pH-sensitive linkage releasing drug from lysosomotropic conjugate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1981; 102: 1048-54.
22. Zunino F, Savi G, Giuliani F, Gambetta R, Supino R, Tinelli S, Pezzoni G. Comparison of antitumor effects of daunorubicin covalently linked to poly-L-amino acid carriers. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 1984; 20: 421-5.
23. Zunino F, Giuliani F, Sovi G, Dasdia T, Gambetta R. Anti-tumour activity of daunorubicin linked to poly-L-aspartic acid. *Int. J. Cancer* 1982; 30: 465-70.
24. Tsukada Y, Kato Y, Umemoto N, Takeda Y, Hara T, Hirai H. An anti- α -fetoprotein antibody-daunorubicin conjugate with a novel poly-L-glutamic acid derivative as intermediate drug carrier. *J. Natl. Cancer Inst.* 1984; 73: 721-9.
25. Hurwitz E, Wilchek M, Pitha J. Soluble macromolecules as carriers for daunorubicin. *J. Appl. Biochem.* 1980; 2: 25-35.
26. Bernstein A, Hurwitz E, Maron R, Arnon R, Sela M, Wilchek M. Higher antitumor efficacy of daunomycin when linked to dextran. In vivo and in vitro studies. *J. Natl. Cancer Inst.* 1978; 60: 379-84.
27. Hirano T, Ohashi S, Morimoto S, Tsukada K, Kobayashi T, Tsukagoshi S. Synthesis of antitumor active conjugates of adriamycin or daunomycin with the copolymer of divinyl ether and maleic anhydride. *Macromol. Chem.* 1986; 187: 2815-24.
28. Duncan R, Kopeckova-Rejmanova P, Strohmalm J, Hume I, Cable HC, Pohl J, Lloyd JB, Kopecek J. Anticancer agents coupled to N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymers. I. Evaluation of daunomycin and puromycin conjugates in vitro. *Br. J. Cancer* 1987; 55:165-74.

29. Daussin F, Boschetti E, Delmotte F, Monsigny M. p-Benzylthiocarbamoyl-aspartyl-daunorubicin-substituted poly-trisacryl. A new drug acid-labile arm-carrier conjugate. *Eur. J. Biochem.* 1988; 176: 625-8.
30. Ryser HJP, Shen WC. Conjugation of methotrexate to poly(L-Lysine) increases drug transport and overcomes drug resistance in cultured cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1978; 75: 3867-70.
31. Upešlaciš J, Hinman L. Chemical modification of antibodies for cancer chemotherapy. In: Saltzman N, ed. *Annual Reports in Medicinal Chemistry* New York: Academic Press, 1988: 151-60.
32. Dillman RO, Johnson DW, Ogden J, Beidler D. Significance of antigen, drug and tumour cell targets in the preclinical evaluation of doxorubicin, daunomycin, methotrexate and mitomycin C monoclonal antibody immunoconjugates. *Mol. Biother.* 1989; 1: 250-5.



A Debreceni Orvostudományi Egyetem

Baráti Köre

A DOTE Egyetemi Tanácsával és Biokémiai Intézetével
együttműködve

1995. november 3-án (péntek) Debrecenben,
születésének 90. évfordulója alkalmából

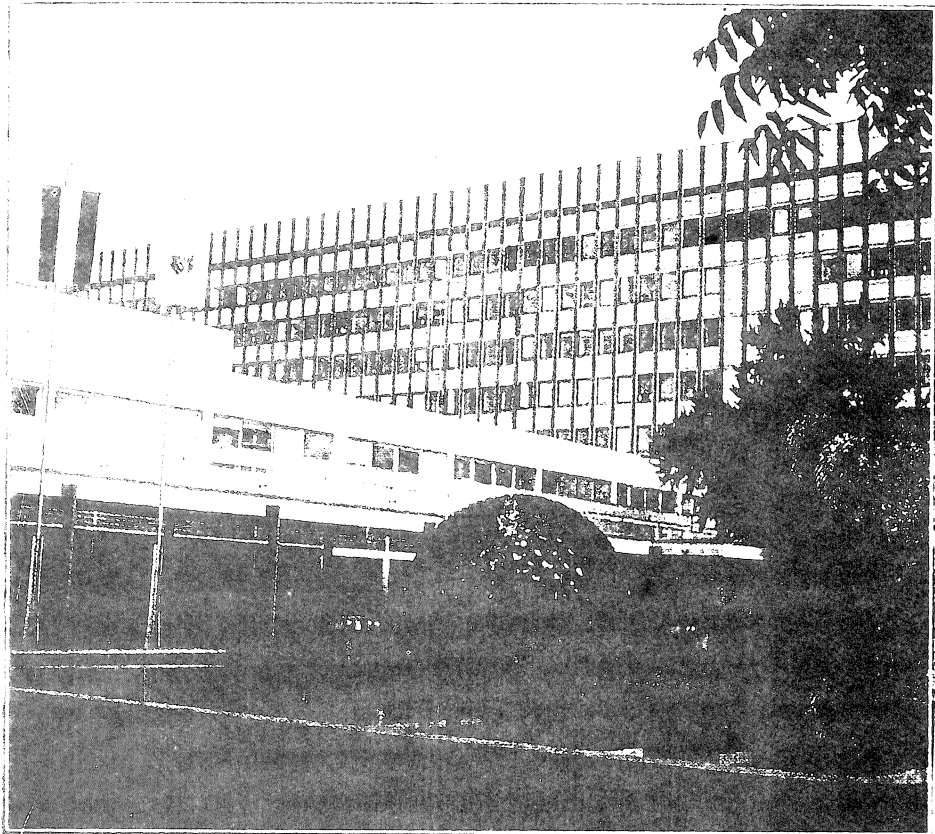
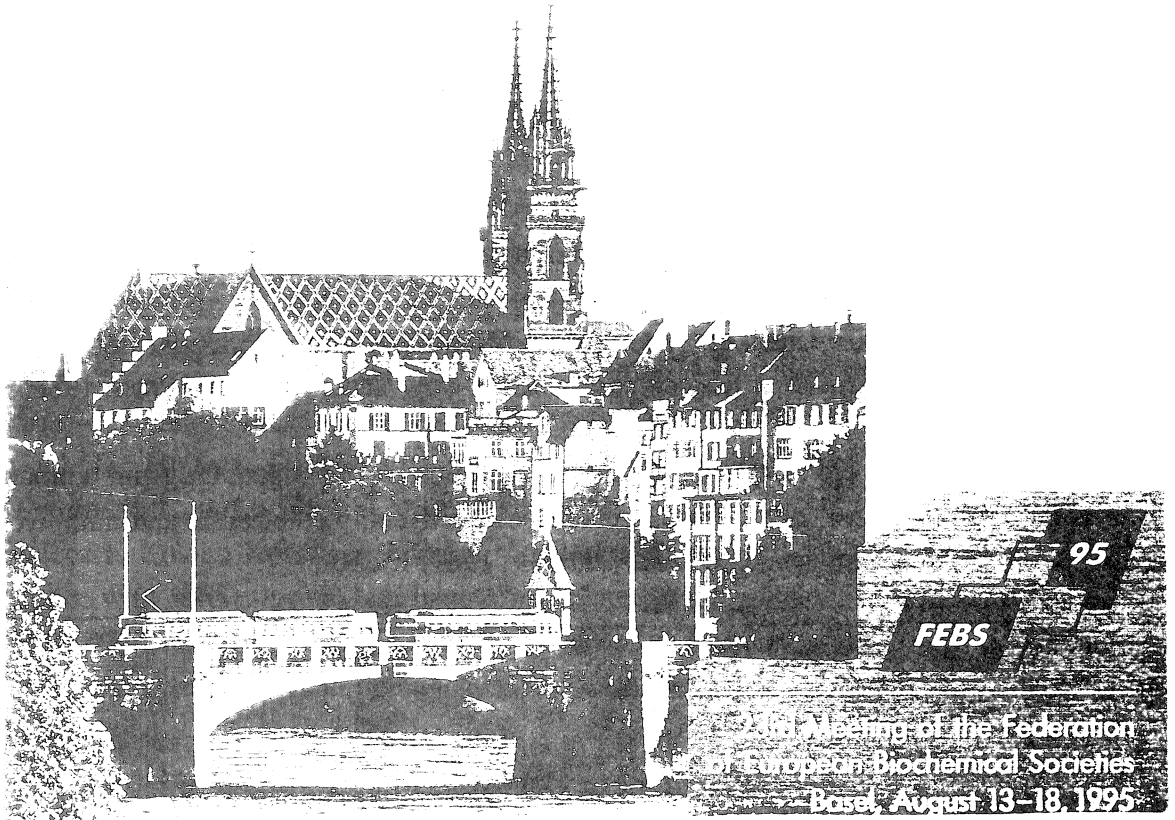
Dr. Tankó Béla emlékülés

keretében idézte fel első biokémia professzora
alkotó munkásságát

PROGRAM

Üléselnök: Prof. Muszbek László

- Megnyitó, üdvözlések
- **Dr. Sugár János:** A DOTE Baráti Kör elnökének köszöntője
- **Dr. Bot György:** Szép emlékek Tankó professzorról
- **Dr. Bagdy Dániel:** Találkozások Tankó Bélával
- **Dr. Friedrich Péter:** Dr. Tankó Béla tudományos tevékenysége
a Magyar Biokémiai Társaságban
- **Dr. Fésüs László:** A DOTE Biokémiai Intézetének jelene és jövője
- **Dr. Muszbek László:** A DOTE új vezetésének bemutatkozása
- A CIBA Hungária Kft. bemutatkozása
- A DOTE Baráti Kör díjainak átadása



2nd International Conference

August 21-23, 1995 Szeged
Hungary

of the

HUNGARIAN BIOCHEMICAL SOCIETY

Beszámoló a FEBS 35. Council Meeting-jéről

A Tanácsülést Baselben, a 23. FEBS Kongresszus keretében tartották. **1995. augusztus 16-án.** A Kongresszus költségvetése mintegy 800 eSFr (~ 90 mFt), aminek több, mint a fele (440 eSFr) a regisztrációs díjakból, negyede (190 eSFr) a kiállítás bevételeiből származott; a többit szponzorok fedezték. A tudományos program 7 plenáris előadásból, 340 szimpoziumi előadásból és 640 poszterből állott. Magyarországról 54 résztvevő érkezett, ami a részvétel rangsorában az élcsoportba juttatott minket. Sajnos nem így a meghívott előadók tekintetében, mert ezek között magyar nem akadt... Ez a lesújtó tény kutatásunk színvonalának relatív csökkenése mellett a svájci kapcsolatok gyengeségére is utal, hiszen a meghívásokban a teljesítmény mellett szubjektív szempontok is érvényesülnek.

1) A FEBS anyagi helyzete továbbra is kedvező. A netto bevétel 1994-ben (1.003 eDEM) ugyan alatta maradt az előző évinek (1.729 eDEM), ez azonban a fokozott juttatások (ösztöndíjak, stb) miatt alakult így. A Tanács azt a döntést hozta, hogy a FEBS Kongresszusok szervezőinek korábban hitelként nyújtott 100 eDEM-et 1996-tól "örökbe", vagyis vissza nem térő támogatásként adja. Ez igen jelentős változás, ami könnyíthet a kongresszusi részvétel anyagi terhein.

2) A FEBS két folyóirata, az Eur. J. Biochemistry és a FEBS Letters, továbbra is a bevétel fő forrásai: 1994-ben a netto bevétel az EJB-nél 935 eDEM, míg a FEBS Lett-nél 2.244 eDEM(!). A nagy különbség oka az, hogy a FEBS Lett. világszerte népszerű gyors átfutási ideje révén és a rövid cikkek szerkesztőségi feldolgozása jóval kisebb apparátust igényel.

3) FEBS Ösztöndíjak. Magyar részről az 1994. évi igénybevétel mindössze **egy rövidtávú ösztöndíj** volt. Továbbra sem használjuk ki kellően e pályázati lehetőséget! Fordított viszonylatban pedig egyáltalán nem: Magyarország egyetlen külföldi vendégkutatót sem fogadott FEBS ösztöndíjjal. Alighanem lehetne találni - tőlünk keletebbre - olyan kutatót, aki szívesen eljönne hozzánk ilyen ösztöndíjjal; az ilyen irányú mozgás tudományos rangunkat is emelné.

4) FEBS tisztségviselők. A Tanács újrapasztázta J. Mowbray-t /GB/ (kincstárnok) és I. Pecht-et /Israel/ (Fellowship Committee elnök). Az Advanced Courses Committee új elnöke K.W.A. Wirtz /Hollandia/ lett. Utóbbi bizottságba tagnak ajánlotta Egyesületünk **Sarkadi Balázst**, akit a Tanács egyhangúlag megszavazott. Örömmel jelenthetem tehát, hogy ismét van magyar biokémikus a FEBS bizottságokban!

5) Új arculatot keres a FEBS összejövetele számára, hogy vonzóbbá tegye a részvételt és csökkentse a rendezvénynaptár zsúfoltságát. Az interdiszciplinitás jegyében javasolták, hogy a FEBS más élettudományi federációkkal közös kongresszusokat rendezhetne.

6) A jövőben tervezett FEBS és IUBMB rendezvények adatait a melléklet tartalmazza. Mivel nagy a tolongás, célszerű volna meggondolnunk, hogy 2000 után ne vállalkozzunk-e egy FEBS vagy IUBMB kongresszus szervezésére.

Budapest, 1995. október 17.

Friedrich Péter
az MBKE elnöke

Pillanatképek a 23. FEBS kongresszusról

Az idei találkozóznak a baseli Konferencia Központ adott otthont, ahol az évente sorrakerülő híres Basel Mustermesse-t is megrendezik. A beszámoló szerzői a nyolcvanas évek második felében vettek részt először FEBS kongresszuson. Az akkori többezres részvétel ma már a múlté, azonban az elmúlt évekbeli csökkenés után megállapodni látszik a résztvevők száma. Ezúttal is mintegy 1500-an érkeztek, mint a legutóbbi "igazi" FEBS-re, Stockholmba. Pontos számot nehéz mondani, mivel sokan csak a helyszínen regisztráltak. Feltűnően kevés volt az "ex-szocialista" résztvevő, amit főként a magas regisztrációs díj (650 SF) és a hasonlóan magas szállás- és megélhetési költségek okozhattak. Sokak számára (így számunkra is) csak különböző ösztöndíjak (Biokémiai Egyesület, OMFB, Soros) tették lehetővé a kiutazást. A magyarok még viszonylag "kítették magukért", hála gyógyszergyáraink nagylétszámú csoportjainak. Összes számuk az előzetes regisztrációs névsor szerint 58 volt, ami bizonyosan nőtt még néhány helyszínen regisztráló jóvoltából.

Az alacsony kelet-európai részvétel másik, hasonlóan, vagy még inkább elkedvetlenítő oka az, hogy a 350 előadó közül (akiknek részben vagy egészben bizonyára fedezték a költségeit) mindössze öt (!) jött ebből a régióból: 2 észti (!), 2 orosz és 1 cseh. Magyar(országi) nem volt közöttük, szerepelt viszont két jól ismert hazánkfi: Lars Ernster (Stockholm) és Georg Radda (Oxford). Evvel kapcsolatban a szervezőbizottság elnöke (aki az elkövetkező évben a FEBS elnöki tisztét is betölti), Joachim Seelig a következőket nyilatkozta a helyi lapban: mivel az előadók kiválasztásának döntő szempontja a színvonal volt, s Kelet-Európában még igencsak gyenge lábakon áll a biokémia ("immer noch auf schwachen Füßen stehen"), így "a 650 frankjáért minőséget váró hallgatóság" lemondani kényszerült a magyar, lengyel, szlovén stb. előadókról. Mindazonáltal valószínűleg az európai színvonalat sem tartják a szervezők kielégítőnek, mivel 57 amerikai (USA) és további 11 nem európai előadót kértek fel. Természetesen megfelelő keretek között ez szükséges, azonban a FEBS mégiscsak az (össz)európai biokémiai társaságok szövetsége. Különösen szembetűnő volt, hogy a 7 plenáris előadásból 5-öt (formálisan csak 4-et) tartott amerikai.

A plenáris előadások a következők voltak:

Nasmyth, K. (Wien): Regulation of DNA replication in yeast (Sir Hans Krebs Lecture, melyet a Eur.J.Biochem. egyik augusztusi száma egészében közöl)

Friedman, J. (New York): Leptin, the gene product of the obese locus circulates in human and mouse plasma (Lásd később!)

Eigen, M. (Göttingen): Sorting single molecules in evolutionary research

Spudich, J.A. (Stanford): Structure and function of myosin: a molecular motor (Lásd később!)

Choi, D. (ST. Louis): Oxygen-glucose deprivation induces both excitotoxic necroses, and apoptosis, in cortical cell culture

Weissmann, C. (Zürich) Molecular biology of prion diseases (Lásd később!)

De Camilli, P. (New Haven): Molecular mechanisms in synaptic vesicle recycling (Datta Lecture, melyet a FEBS Lett. augusztus 1-i száma közöl)

A további 343 előadás 65 (!) szimpoziium keretében zajlott. (Összehasonlításképpen: 93-ban, Stockholmban 27 szimpoziiumon 188 előadás hangzott el. A tervek szerint 95-ben, Barcelonában 25 szimpoziium és 12 "workshop" lesz.) 8-9 előadás is folyt párhuzamosan. Többször eszébe juthatott az embernek az egykori induló: "Munkásörnek egy baja, mért nincs három élete...". Egyszóval, kevesebb több lett volna. Mindezt az tette lehetővé, - hogy ezután már jót is írjunk -, hogy a baseli kongresszusi központ minden igényt kielégítő; kiválóan alkalmas konferenciák rendezésére. Éppen ezért talán annyi önkorlátozást elvárhattunk volna, hogy a szervezők megelégszenek a 8-9 helyett 6 párhuzamos szekcióval, s akkor nem kellett volna esetenként a néhány percre lévő World Trade Centerbe átsétálni előadást hallgatni. (Persze mi ez a mi Szabadság-hídi sétánkhoz - 90-es FEBS - képest.) Hasonló önkorlátozást igényelt volna az előadók megválasztása is: csaknem minden szekcióra jutott egy svájci - szinte mindig a szekció megválasztója -, aki gyakran még egy hazai kollégát felkért. (Több az eszkimó, mint a szekció; Madách után szabadon.)

A posztereket (kb. 640) a 65 szekciónak megfelelően rendezték el, s ami - lássanak csudát - még e tömérdek szekcióba sem fért be (pl. enzimológia - így a mi egyik poszterünk is), azok számára "General topics" néven nyitottak egy 66-ikat is. Ehhez kapcsolódik a

kongresszus egyik kiemelkedő pozitívuma: a poszter szekció alatt a Heineken Bier jóvoltából ingyen sört ihattunk, ki-ki képességei és mértékletessége szerint. Evvel elérkeztünk a szponzorokhoz, akik számszerint 24-en voltak, mindenek előtt a nagy baseli gyógyszergyárak, a Ciba-Geigy, a Hoffmann-la Roche és a Sandoz. Így nem meglepő, hogy a szokásos kongresszusi "kirándulás" e három egykor svájci, ma már világcég egyikének (választás szerint) meglátogatását jelentette. Végezetül elismeréssel kell szólnunk a kiállításról, ahol 42 - javarészt svájci - cég és 8 könyvkiadó mutatta be termékeit és kiadványait.

Minden jó, ha a vége jó. Ezért hagytuk a végére - a bőség zavarával is küzdve - néhány érdekesebb eredmény ismertetését, megengedve, hogy mások, érdeklődésüknek megfelelően mást emeltek volna ki.

Érdekes eredmények

Közel a megoldás túlsúlyos egerek (és emberek?) számára! A témában három kutatócsoport is egyszerre közölte a Science július 28-i számában, hogy az *obese* gén fehérje terméke képes lefogyasztani a normális egerek kétszeres testsúlyát elérő *ob/ob* egereket, melyekben az *obese* gen hibás. A FEBS-en az egyik kutatócsoport vezetője, J. Friedman (New York) tartott plenáris előadást eredményeiről. Az általa "leptin"-nek (leptós (görög) = sovány) nevezett fehérje napi injekcióban adva azokat a normál testsúlyú egereket is lefogyasztotta, melyekben az *obese* gén normális. Továbbá, a leptin-injekciók hatására azon kövér egerek testsúlya is csökkent, melyek nem az *obese* gén hibás volta miatt kövérek, hanem idősebb korokra vagy zsírgazdag étrend következtében híznak meg. Ez utóbbi eredmény (meg az, hogy az *obese* gén emberekben is jelen van) felcsillantja a reményt, hogy a leptin emberek számára is hasznos fogyókúrás gyógyszer lehet, noha ennek igazolásához még sok lépés hátravan. Mindenesetre a reménycsillám 20 millió dollár befektetésére készített egy biotechnológiai céget: az *obese* génen alapuló termékek kizárólagos licencjogáért ennyit fizetett a cég a Friedman és S. Burley által vezetett labornak otthont adó Rockefeller egyetemnek. A jelen adatok arra utalnak, hogy a leptin egy, esetleg a hipotalamuszban levő receptoron keresztül hat; a receptor génjében mutáns egerekre (a modellel egyetértésben) nem hatott a leptin injekció.

Több citoszkeletális és motorfehérje esetén részletes szerkezet-funkció összefüggésekre derült fény, részben kristályszerkezeti adatok birtokában, részben különböző ügyes technikájú *in vitro* mozgást mérő módszerekkel, részben pedig a mutáns fehérjék *in vivo* analizisével. J. Spudich (Stanford) például a miozin molekula hosszú helikális karjának egy bizonyos "emelő" szerepet tulajdonított, a különböző hosszú mutáns miozinok vizsgálata alapján, az általa kifejlesztett "feed-back enhanced laser trap assay" alkalmazásával. A mikrotubulushoz kötődő molekuláris motor, a kinezin a mikrotubulusok, mint sínek mentén zajló axonális transzportban játszik fontos szerepet. E. Mandelkow (Hamburg) a kinezin-mikrotubulus komplex szerkezetét elektronmikroszkópos felvételekkel és optikai diffrakcióval vizsgálva megállapította, hogy a kinezin ATPáz doménje a mikrotubulust felépítő alfa- és béta-tubulin közül a béta-tubulinhoz kötődik. Ezt az információt felhasználva az a következtetés adódott, hogy a mikrotubulus gyorsan növekvő végén alfa-tubulin helyezkedik el, szemben a korábbi véleménynel, amely szerint a gyorsan növekvő végeken béta-tubulin található. Ez a vita a tubulin polimerizációjában szerepet játszó GTP hidrolízis mechanizmusának tisztázásában is fontos. Rendkívül látványos volt M. Sheetz (Durham) video bemutatója, mellyel a "lézersugár csipesz" (laser optical tweezers) módszert illusztrálta. A korábban pN (picoNewton) nagyságrendű erőhatások kimutatására kidolgozott módszer motorfehérjék jellemzése után most a sejtmembrán mechanikai tulajdonságainak mérésére szolgált. A "csipesszel" kihúzott plazmamembrán elengedés után "visszaugrik" eredeti helyzetébe. A kihúzáshoz szükséges erő függött az aktin citoszkeleton lerombolását előidéző cytochalasin B jelenlététől, bizonyítva az aktin citoszkeleton szerepét a membrán mechanikai stabilitásában.

C. Weissmann (Zürich) szórakoztató anekdotákkal fűszerezett plenáris előadásában a prion betegségek (scrapie, emberben Creutzfeld-Jacob betegség) molekuláris biológiájáról beszélt. A betegség minden eddig ismert esetben halálos, fertőző, de egyes formái örökletes géndefektusra vezethetők vissza. A fertőzésért felelős molekula jelenlegi ismereteink szerint

teljesen nukleinsav-mentes, a feltételezett fertőző ágens a normális, minden gerinces szervezetben előforduló prion fehérje egy módosított formája. A betegség terjesztését az ún. "protein only" hipotézis szerint ez a módosított prion egyedül képes előidézni, oly módon, hogy a normál prion molekulákat is módosított, "rossz" prionná alakítja. Egészséges egyedekbe "rossz" priont juttatva, a megbetegedés során az egyedekben a normális prion is "rossz" prionná alakult át. A betegség molekuláris mechanizmusa egyelőre nem tisztázott, sok a kérdőjel, Weissmann a "protein only" hipotézissel összhangban lévő (de azt nem bizonyító) kísérleteket mutatott be. Transzgenikus egérben a priont kódoló gént kiirtotta ("knock-out"), ebben az egérben nem termelődött tehát a normális prion fehérje. Az ilyen egyed nem volt fogékony a "rossz" prionnal való fertőzésre, bizonyítva, hogy a normális prion fehérje eszenciális a betegség kialakulásában.

A receptor tirozinkinázokon alapuló jelátvitellel, SH2, SH3 doménekkel több szekció is foglalkozott. D. Stover (Basel) előadásában beszámolt arról, hogy a Src-hoz hasonló kinázok SH2 doménon történő foszforilálása szabályozza az SH2 domén ligandspecificitását. Ennek a foszforilálásnak a helye egy, valamennyi Src-hoz hasonló kinázban szigorúan konzervált tirozin, az SH2 doménon belül. A foszforilálás által kiváltott specificitásbeli változásokat molekuláris modellezéssel szimulálni lehetett. C. J. Marshall (London) a Ras-Raf-MAP kináz jelátvivő kaszkádon végzett kísérleteiben kimutatta, hogy a Raf aktiválásáért két különböző membránlokalizált esemény felelős. A GTP-kötő Ras fehérje szerepe abban is fontos, hogy a Raf fehérjének a membránhoz való jutását elősegítse. A Raf foszforilálása valószínűleg a membránhoz kötött formában fordulhat elő. A mechanizmus azonosításához a MAP kináz kaszkád egyes elemeinek mutans formáit használták, ahol a foszforilálendő tirozin oldalláncokat savas vagy hidrofób jellegű aminosavakra cserélték.

A mutáns fehérjék előállításáról szóló "Protein engineering" szekcióban beszámoló hangzott el Zn-kötő helyek kialakításáról, megfelelő béta-lemezes, fémet eredetileg nem kötő fehérjékben (A. Skerra, Darmstadt). A Zn-kötő forma izolálása és tisztítása fémaffinitáskromatográfiával gyors és hatékony. Az aszpartát aminoszféra R225Y/R386A mutánsa transzaminálás helyett dekarboxiláz aktivitáshoz jutott P. Christen (Zürich) laboratóriumában. A "reakcióspezifitás" ilyen változásának molekuláris okait az előadó kiválóan szemléltette a nagyfeloldású röntgendiffrakcióval meghatározott kristályszerkezetek segítségével.

Végül csak felsorolásszerűen: több szekció foglalkozott a fehérjefolding és a chaperonok témájával, a génterápia lehetőségeivel, a kalcium-függő jelátviteli folyamatokkal, ioncsatornákkal, gyógyszertervezéssel, DNS metabolizmussal, human genetikával, immunológiával, sejt-sejt kölcsönhatásokkal.

G. Vértessy Beáta és Orosz Ferenc
MTA SzBK Enzimológiai Intézet

Szakmai utijelentés

1995. augusztus 13-18-ig a Baselban megtartott "23rd Meeting of Federation of the European Biochemical Societies"-on vettem részt. Ezen a nemzetközi kongresszuson 56 különböző szekció volt, amelyből a 14-es "Ca²⁺ Signalling" témában vettem részt poszterrel.

A poszter címe: Cyclic ADP-ribose induced Ca²⁺ release from liver rat microsomes.

A poszter szerzői: Judit Bak, György Timár és Antony Galione.

A téma tárgyát, egy 1987-ben H.C.Lee és mtsi. által leírt endogén eredetű másodlagos messenger, – a ciklikus ADP-ribóz – képezte. Az már irodalomból ismert tény, hogy ez a vegyület – hasonlóan az inositol-1,4,5- triszfófatához (IP₃) –Ca²⁺-t szabadít fel az intracelluláris Ca²⁺ raktárakból. Először tengeri sünnepetesejtben írták le a cADPR jelenlétét és hatását, a későbbiekben magasabbrendűek különböző szöveteiben is identifikálták, mint vázizomban, szívizomban, pankréáz β sejtjeiben és agyban. Arra viszont még nem volt adat, hogy a cADPR-nak van-e Ca²⁺ felszabadító hatása máj szövetben. Azt találtuk, hogy a cADPR indukál Ca²⁺ felszabadulást az endoplazmatikus retikulumból máj szövetben is. A továbbiakban arra szeretnénk volna választ kapni, hogy az endoplazmatikus retikulumból milyen típusú Ca²⁺ csatornán keresztül történik a Ca²⁺ felszabadulás. Ennek gyakorlati megvalósítása úgy történt, hogy rianodin és IP₃ receptor gátlókat (ruthenium vöröst és heparint) használtunk. Az eredményeinkből az látható, hogy a ruthenium vörös gátolja a cADPR effektust, míg a specifikus IP₃ receptor blokkoló heparin hatástalan volt. Ebből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a cADPR-indukált Ca²⁺ felszabadulás egyfelől független az IP₃ receptortól, másfelől bizonyított, hogy a rianodin receptoron keresztül történik.

A rianodin receptoron keresztül történő Ca^{2+} felszabadulás körülményei már jól ismertek, de nem sok adat áll rendelkezésünkre a cADPR indukált Ca^{2+} felszabadulás kinetikai körülményeiről. Érdekes kérdésnek tartottuk annak vizsgálatát, hogy a rianodin receptoron keresztül történő cADPR-indukált Ca^{2+} felszabadulás milyen intracelluláris Ca^{2+} $[\text{Ca}^{2+}]_i$ koncentrációk között a legoptimálisabb, mivel ismert adat, hogy a rianodin receptoron keresztüli Ca^{2+} felszabadulás egyrészt intracelluláris Ca^{2+} koncentráció függő effektus, másrészt 10^{-6} M $[\text{Ca}^{2+}]_i$ koncentrációnál található a maximális Ca^{2+} efflux. Kísérleti eredményeinkből látható, hogy a cADPR-indukált Ca^{2+} felszabadulás intracelluláris Ca^{2+} függése egy harang görbével írható le, amelynek a maximuma 10^{-6} M-nál található, hasonlóan mint a kontroll kísérletnél, ahol nem használtunk cADPR-t. Ami jelentős különbségnek tekinthető, hogy ugyan a kontrollnak és a cADPR-indukált effektusnak az intracelluláris Ca^{2+} maximuma megegyezik, de ezen a $[\text{Ca}^{2+}]_i$ optimumon a cADPR 40%-ai képes indukálni a Ca^{2+} felszabadulást.

A cADPR-nak ismertek az analóg vegyületei is, amelyek az adenosin váz 8-as C atomján lettek módosítva, mint a 8-NH₂-cADPR, 8-Br-cADPR. A 8-NH-cADPR egyfelől nem indukálja Ca^{2+} felszabadulást az intracelluláris Ca^{2+} raktárakból, másfelől bekötődve a rianodin receptor specifikus cADPR-kötőhelyére felfüggesztik a rendszerhez később hozzáadott cADPR hatását.

BAK JUDIT

Semmelweis Orvostudományi
Egyetem II.Kémiai-Biokémiai
Intézete

Survey on the Planned IUBMB Congresses and Conferences as well as FEBS Meetings

24th FEBS Meeting	Barcelona (SPAIN)	7-12/7/1996
	Prof. Dr. Joan Guinovart Universitat de Barcelona Div. III, Facultat de Químics Dep. de Bioquímica i Fisiologia Martí i Franqués 1 08028 Barcelona / SPAIN Tel.: +34-3-4021206 Fax: +34-3-4021219	
4th IUBMB Conference	Edinburgh /Scotland	14-17/7/1996
„The Life and the Death of the Cell“	Prof. John Coggins, Glasgow (Chairman)	
Special FEBS Meeting	Amsterdam (THE NETHERLANDS)	30/6-3/7/1997
„Molecular Mechanisms of Cell Signalling: from the Membrane to the Gene“	Prof. Dr. K. W. A. Wirtz Centrum voor Biomembranen en Lipide Enzymologie Rijksuniversiteit te Utrecht Tel.: +31-30-532546 Fax: +31-30-522478	
17th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology in con- junction with ASBMB Meeting	San Francisco (U.S.A.)	24-29/8/1997
	Dr. Robert Hill Dept. of Biochemistry Duke University Medical Centrum Durham North Carolina 27710 / U.S.A. Tel.: +1-919-684 5326 Fax: +1-919-648 8885	
25th FEBS Meeting	Copenhagen (DENMARK)	5-10/7/1998
	Prof. Dr. Julios E. Celis Institute of Medical Biochemistry University of Aarhus /Ole Woms Allé, B.170 DK-8000 Aarhus C /DENMARK Tel.: +45-89-422880/64 Fax: +45-86-131160	

-
- | | | |
|--|---------------------------|----------------------|
| 5th IUBMB Conference on
„The Biochemistry of
Health and Diseases“ | Jerusalem (ISRAEL) | 18-22/10/1998 |
|--|---------------------------|----------------------|
- Prof. U. Z. Littauer
Department of Neurobiology
The Weizmann Institute of Science
76100 Rehovot, ISRAEL
Tel.: +972-8-343641
Fax: +972-8-465260
-
- | | | |
|--------------------------|----------------------|---------------------|
| 26th FEBS Meeting | Nice (FRANCE) | 20-25/6/1999 |
|--------------------------|----------------------|---------------------|
- Prof. Dr. Guy Dirheimer
UPR SMBMR
Inst. de Biologie Moléculaire et Cellulaire
15, rue René Descartes
F-67084 Strasbourg / FRANCE
Tel.: +33-88-417056
Fax: +33-88-610680
-
- | | | |
|-----------------------------|--------------------------------------|-------------|
| 6th IUBMB Conference | Seoul
(REPUBLIC OF KOREA) | 1999 |
|-----------------------------|--------------------------------------|-------------|
-
- | | | |
|--|--------------------------|-------------|
| 18th IUBMB Congress of
Biochemistry and Molecular Biology | Birmingham (U.K.) | 2000 |
|--|--------------------------|-------------|
-
- | | | |
|--------------------------|-----------------|-------------|
| 27th FEBS Meeting | PORTUGAL | 2001 |
|--------------------------|-----------------|-------------|
- Prof. Dr. Claudina Rodrigues-Pousada
Inst. Gulbenkian de Ciência
Lab. of Molecular Genetics
Ap. 14, 2781 Oeiras, Portugal
- Tel.: +351-1-4435600
Fax: +351-1-4431631
-

BESZÁMOLÓ A MBKE II., SZEGEDEN MEGTARTOTT NEMZETKÖZI KONFERENCIÁJÁRÓL

Minden jó, ha a vége jó! A közmondás különösen és lelkesítően igaznak bizonyult a MBKE II. Nemzetközi Konferenciájának esetében (Szeged, 1995. aug 20-23). Mitagadás, jócskán izgultunk a senkinek sem igazán kedvező időpont miatt (létezik még egyáltalán ilyen ?), az eleinte igencsak visszafogott szponzoraink miatt, a legjobb szándékunk ellenére is sokaknak magas részvételi díjak miatt, a Szeged helyett inkább Egerbe készülő műszerkiállítók miatt, no meg a melegért Bugacon (ha már a Feszti Körképet nem nyitották ki a kedvünkért Ópusztaszeren) és egy kis hüvösért az előadótermekben. Aztán, akár a népmesékben, a "bajokat" legyőztük sőt, a "jók" méltó jutalmukat is elnyerhették. Így kaphatott Tankó Díjat *Sarkadi Balázs*, a legjobb ifjúsági poszterkiállítók "LIP" díját három fiatal tudósjelölt *Fuxreiter Mónika*, *Müller Marianna* és *Várallyay Éva*, virágcsokrot pedig a 60. születésnapján felköszöntött *Venetianer Pál* akadémikus, a házigazda SZBK főigazgatója.

Egyébként a regisztrált résztvevők száma 230 volt. A négy plenáris előadáson kívül (*J. Hanoune*, *L. Nover*, *J.L. Markley*, *T. Farkas*) további 45 hangzott el a nyolc szekcióban. Az egyes szimpóziumok magas szakmai színvonalát, a résztvevők érdeklődését és aktivitását a különböző visszajelzések egyértelműen igazolták. A felkért előadók közül 25 érkezett külföldről. Megszemlélhettünk 92 posztert, többségük poszterdiszkuessziójára is sor került. Szép számmal jöttek és tudósítottak a sajtó képviselői is, akik - anélkül, hogy a rendezőknek bármiféle előzetesen egyeztetett "prekonceptiója" létezett volna, - külön kiemelték az "egy blokkba" sorolható, és a napjainkban amúgy is divatos stressztémákat.

Summa summarum: nyugodtan kijelenthetjük, hogy az immáron hagyományokra építő, régióként körbejáró, angol nyelvű biokémikus seregszemle kiváló ötletnek bizonyult, igazolta a hozzá fűzött reményeket. Várjuk a folytatást Pécssett, 1997-ben, ahol a házigazda Sümegi Balázs lesz. Végezetül hadd törlesszük egy adósságunkat: ez pedig a rendezők és szimpóziumszervezők listájának közreadása, ezt ugyanis egyszerűen kifelejtettük a programfüzetből. A helyi rendező bizottság tagjai voltak tehát: *Borsodi Anna*, *Deák Ferenc* és *Dux László*. További segítségeink közül hadd emeljük még ki *Miklós Olga* és *Biró Éva* titkárnők nevét. Az egyes szimpóziumok szervezőit az azokról az alábbiakban közreadott áttekintések élén soroljuk fel.

Szimpóziumok:

"Environmental Biochemistry and Biotechnology" (*Nemesók János*)

A szimpoziium megtartására a konferencia nyitó napján került sor. Az Ausztria, Franciaország, Németország, Olaszország és USA kutatóintézetekből és egyeteméről meghívott előadók hat előadásban számoltak be kutatási eredményeiktől, elsősorban a kemotoxicitás (nehézfémek, toxikus hatású szerves vegyületek) molekuláris hatásairól az élő szervezetben, a detocifikálásban szerepet játszó, intracelluláris védekezést szolgáló mechanizmusokról és regulációjukról, a carcinogenesis genetikai mechanizmusát módosító tényezőkről, továbbá új terápiás módszerek kidolgozásáról. A szimpoziiumhoz kapcsolódóan 34 poszter bemutatására került sor, amelyet az érdeklődők nagy számú részvételével kísért poszter diszkuesszió zárt. Ennek során lehetőség nyílt egyrészt arra, hogy a rendkívül széles kutatási spektrumot átfogó poszterek szerzői rövid, öt perces összefoglalót adjanak legfontosabb eredményeikről, másrészt a nyilvános vitára. Önálló Környezeti biokémia és biotechnológia szimpoziium megrendezésére a MBKE konferenciáinak sorában az idén első ízben került sor, amelynek előkészítéséhez előzményként hozzájárult a Környezetbiokémiai Szakosztály által 1993-ban Szegeden rendezett Környezetbiokémiai Szimpoziium.

“Biochemical Adaptation in Contractile Tissues” (*Dux László*)

Az adaptációs folyamatok biokémiai, molekuláris háttere az egész konferencia egyik fő témájának bizonyult. Ezen belül, az általunk szervezett szimpózium jelentőségét a kontraktilis szövetek, ezen belül a myocardium adaptációs folyamatainak életfontossága adta. A szív- és érrendszeri betegségek aggasztóan magas előfordulási aránya, súlyos következményei az adaptáció határainak biokémiai ismereteken alapuló kiterjeszhetőségét, az adaptív folyamatok mellékhatásainak azonosítását, a pathobiokémiai kutatások gyakorlati feladatává tette. Amint az elhangzott előadások (*Howard Green, Szabó Csaba, Ferdinándy Péter, Gary F. Baxter*) anyaga is tükrözte, a vázizmokon az elmúlt évtizedekben tett megfigyelések, egyre jobban alkalmazhatóvá váltak a myocardium tanulmányozásában is. Túlélő, perfundált szívkészítmények terhelése, stressz, ischaemia tűrőképességének funkcionális, biokémiai, molekuláris biológiai értelmezése az elmúlt néhány évben az érdeklődés előterébe került. Az ischaemia tűrőképesség fokozása (prekondicionálás) előzetes terheléssel, vagy mérsékelt megelőző ischaemiás állapottal, az elhangzottak szerint visszavezethető egyes stressz adaptációs (hősokk) fehérjék megváltozott expressziójára. Ennek kiváltásában a nitrogén monoxid fontos mediátor szerepet tölthet be. A részletes pathobiokémiai, molekuláris biológiai háttér számos területen tisztázatlan. A plauzibilisnek tűnő mechanizmusok egyértelmű igazolása a következő évek fontos kutatási feladata. Az előadók lelkesedése, együttműködési szándéka, a szép számú hallgatóság érdeklődése jó esélyt adhat arra, hogy ebben a munkában a magyar biokémikusoknak a jövőben is jelentős szerep jusson.

“Molecular Biology and Physiology of the Temperature Stress” (*Horváth Ibolya és Vigh László*)

A celluláris stressz ill. stresszelhárító mechanizmusok működésének immáron klasszikus megközelítési modellje a stresszorokként az extrém környezeti hőmérsékletek (hő, hideg) hatásának tanulmányozása. *László Andrei* az emlős sejtek termorezisztenciájának, a hősokk fehérje családok felosztásának, alapfunkcióinak áttekintésével vezette be a szimpóziumot. *Venetianer Anikó* a HSP68-nak a hepatoma sejtek termotoleranciájában és multidrog rezisztenciájában játszott szerepét, a két jelenség ok-okozati összefüggésének kérdéseit taglalta. A *Streptomyces albus* mint multichaperonin model bemutatásával (*Pascale Servant*) a GroESL stresszfehérjék funkcióinak és szerveződésének izgalmas kérdéskörébe nyerhettünk bepillantást. A hőmérsékletstressz okozta celluláris károsodások egyik közismert, sokszor elsődleges célpontja a sejtmembrán. *Farkas Tibor* plenáris előadásban mutatta be a membránalkotó foszfolipid molekulaszpeciezek átrendeződését mint egy hatásos adaptív stratégiát, míg *Ray Manning* a hőmérsékletstressznek kitett plazmamembránon átmenő jelátviteli folyamatokról szólt. Ez utóbbi gondolatmenethez csatlakozott az a hipotézis, amely szerint a sejtmembránok fizikai állapotának extrém hőmérsékletekkel, stresszorokkal kiváltott perturbációját a membrán a sejt egyik “hőmérőjeként” képes “jelként” felfogni és egy, a membránból kiinduló jelátviteli kaszkádon át ezáltal bizonyos “stresszelhárító gének” (deszaturázok, stresszfehérjék) működését szabályozni (*Vigh László*).

“Cytokines” (*Duda Ernő*)

A “Cytokines” szekcióba meghívott "nemzetközi nagyágyúk" sajnos a szimpoziium előtti hetekben valamennyien lemorzsolódtak, így a szekció teljesen elmagyarosodott. *Kemény Lajos* előadásában az interleukin 8 és IL-8 receptor rendszer gyulladáskeltő szerepét taglalta, s farmakológiai befolyásolásuk lehetőségeit vetette fel. *Tamara Kubaszova* a sugárkezelések (általában a besugárzás) által kiváltott citokin termelés terén végzett vizsgálatokat ismertette, *Duda Ernő* a TNF embrionális sejtekre kifejtett, a differenciálódást befolyásoló hatásait taglalta, *Szekeres-Barthó Julianna* a citokin hálózatnak és az immunrendszernek a terhesség folyamán beálló változásairól beszélt. *Tóth Sára* előadása az IL-2 (és rokon interleukinek) szignáladási folyamatait részletezte. Az előadások

színvonalát azon lehetett leginkább lemérni, hogy a hallgatóság a trópusi hőség ellenére is a szekció végéig kitartott.

“Stress Proteins - Molecular Chaperones” (Csermely Péter és Vigh László)

A szekcióban az egyre nagyobb nemzetközi érdeklődéssel kísért tudományterület olyan ismert személyiségeit láthattuk vendégül, mint *Lutz Nover*, aki a chaperon fehérjéről plenáris előadást tartott, *Olivier Bensaude*, *Pierre Goloubinoff* és *Ichiro Yahara*. *Olivier Bensaude* munkacsoportjának a stressz-aktivált fehérje kinázokkal kapcsolatos legújabb eredményeit ismertette, amely szerint a DNS-függő RNS polimeráz C-terminálisának a polimerázt aktiváló, stressz-függő foszforilációjaért a stressz-aktiválta MAP-kináz (is) felelős. *Pierre Goloubinoff* a 60 és 10 kDa-os hősokk fehérjék kölcsönhatásainak egy új modelljét (“football”) támasztotta alá meggyőző adatokkal, míg *Ichiro Yahara* a 90 kDa-os hősokk fehérje tulajdonságairól és funkciójáról tartott összefoglaló előadást. *Gabrielle Multhoff* a stressz fehérjék egyre jelentősebb klinikai alkalmazásairól beszélt, míg a magyar résztvevők közül *Horváth Ibolya* a *Synechocystis* 60 kDa-os GroEL stressz fehérje transzkripció szabályozásának elemzésével többek között a génműködés fotoszenzitivitással való kapcsolatára mutatott rá. *Csermely Péter* a 90 kDa-os hősokk fehérje ATP-függő funkcionális változásaira hívta fel a figyelmet. A szekció előadásain a levezető elnökök néha nehéz perceket éltek át, hogy a kérdéseket az időrend megszabta keretekbe szorítsák, de ez is azt mutatta, hogy a tématerület itthon is mind nagyobb és nagyobb érdeklődést kelt.

“Serine Proteases; Structure and Function” (Gráf László)

A enzimekatalízis alapkérdése, hogy t.i. az enzimek milyen általánosan leírható mechanizmussal alakítják át szubsztrátjaikat a katalízis termékeivé, mindmáig tisztázatlan. A szimpóziium előadásai és az ezekhez kapcsolódó plenáris előadás (*J.L. Markley*), a szerin proteázok példáján, lényegében véve mind erre a kérdésre keresték a választ. A két meghívott külföldi előadó, *J.L. Markley* és *F. Jordan* olyan NMR (mágneses magrezonancia) vizsgálatok eredményeiről számolt be, melyekből kitűnt, hogy az egyes egyszerű szerin proteázok (tripszin, kimotripszin és szubtilizin) katalitikus triádjaik H-híd-szerkezete alapállapotban is eltéréseket mutat (*J.L. Markley*), és hogy ezek a szerkezetek az ún. “transition state” analógokkal való reakció során az analóg kémiai természetétől függő változásokon mennek keresztül (*F. Jordan*). Ezeknek az eredményeknek az alapján megkérdőjelezhető az a felfogás, mely szerint az egyes proteáz-”transition state” analóg komplexek szerkezete minden tekintetben megfelel a valós átmeneti állapot szerkezetnek. *Náray-Szabó Gábornak* az enzim átmeneti állapot töltéseloszlására vonatkozó elméleti megfontolásai lényegi összhangban vannak a fenti NMR-es megfigyelésekkel. Munkacsoportom eredményei alapján és saját nézetem szerint az egyszerű szerin proteázok, mint a tripszin és kimotripszin, eltérő szubsztrátspecifitásának hátterében is az enzimreakciók enzimenként némileg eltérő katalitikus működése állhat (*Gráf L.*). *Polgár László* szerint a szerin proteázok új családjába sorolt prolil oligopeptidáz esetében a sebességmeghatározó lépés nem a katalitikus kémiai reakció, vagyis az átmeneti állapot kialakulása, hanem a szubsztrát kötődésekor bekövetkező konformációváltozás. *Závodszy Péter* a komplement rendszer első komponense szubkomponenseivel foglalkozó előadásában a proteáz szubsztrátspecifitás más elv szerint, a regulációs modulok felhasználásával történő szabályozásáról számolt be.

“Hormone- and Neurotransmitter Receptors” (Borsodi Anna)

A hormon és neurotransmitter szimpóziumon öt előadásra került sor. Az opioid receptorok egy különleges, új ligandjáról *Wollemann Mária* számolt be. A metionin-encefalinnak Arg és Phe-nál meghosszabbított analógja nagy affinitással kötődik patkány agy membrán preparatához, ahol két kötőhely különíthető el, amelyek specifitása eltérő. A “kis affinitású” kötőhelyet a szigma receptorral hozzák összefüggésbe. Az opioid receptorok dependenciával kapcsolatos regulációjáról *Rüdiger Schulz* adott elő, aki rávilágított arra,

hogy az adenil cikláz mind a serkentő, mind a gátló szabályozásban részt vesz. A folyamatban a G-fehérjék alfa alegységének koncentrációja játszik meghatározó szerepet. A dependencia kialakulásában a más, G-fehérjékhez kötött receptorokkal (pl. adrenerg receptorok) való kölcsönhatás a lényeges. *Kéri György* egy új, öt aminosavból álló szomatosztatin analógot mutatott be, amely tumorelles aktivitással rendelkezik "in vivo és in vitro", a növekedési hormon gátlása nélkül. A peptid hatását több sejtvonalon is igazolták. A peptid tartós (pl. 24 óra) inkubálás után a tirozin kináz aktivitását gátolja, ami apoptózist eredményez. A receptorok működésének általános sajátásaival, elsősorban az aktív konformációk szerepével *Simonyi Miklós* foglalkozott, aki elsősorban a heterogén GABA receptorok és transzporterek példáján mutatta be a reguláció sokszínűségét. *Nagy László* Debrecenből a szöveti transzglutaminázt, mint multifunkcionális enzimet mutatta be, amelynek fontos szerepe van az apoptózisban. Az enzim regulációjában alapvető szerepet játszó "retionoid response element" azonosításáról is beszámoltak.

"Cell Cycle Control" (*Dudits Dénes*)

A sejtciklus szabályozásával foglalkozó szimpózium elsősorban összefoglaló előadásokkal adott áttekintést e rohamosan szélesedő kutatási terület néhány eredményéről. Nagy érdeklődés mellett tartotta meg előadását *Szabad János*, aki beszámolt a *Drosophila* Ketel gén izolálásáról, amely az importin 90 fehérjét kódolja. A genetikai és molekuláris biológiai megközelítés sikeres kombinálásával alapvetően új információkat lehetett nyerni a sejtmagi fehérjeimport szerepéről az első mitotikus osztódások során. *Marcsek Zoltán* részletes áttekintést adott az emlős sejtek osztódását szabályozó stimuláló illetve gátló faktorokról. A tumor szupresszor fehérjék mellett külön kitért a ciklin függő kinázkomplexeket gátló fehérjékre, amelyek felfedezése egy igen jelentős előrehaladás az utóbbi évek sejtciklus kutatásában. A sejtosztódások szabályozását biztosító molekuláris folyamatok filogenetikai konzerváltságát alátámasztják a növényekkel végzett vizsgálatok. *Dudits Dénes* beszámolt lucerna ciklin függő kinázokat illetve ciklineket kódoló gének izolálásáról. Igazolódott, hogy ezek a gének hormonális szabályozás alatt állnak a növények esetében. Egyre több adat támasztja alá a regulációért felelős fehérjekomplexek sejtciklustól függő szerepét. *Penyige András és Toldi Ottó* rövid előadásban foglalták össze legújabb kutatási eredményeiket. Ez a szimpózium nem vállalkozhatott a sejtciklus kutatás legújabb eredményeinek teljeskörű bemutatására. Megfontolandó egy ezzel foglalkozó tudományos konferencia megszervezése, amely az élesztőtől az emberig értékelné a sejtosztódás univerzális és specifikus szabályozó elemeit.

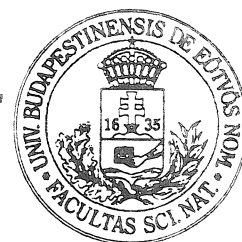
Viszontlátásra Pécsen, 1997-ben

Vígh László
konferencia elnök

Fridrich Péter
az MBKE elnöke

**Eötvös Workshops in Science '95:
"Synthetic Polymers in Drug Delivery Research (SPIDER)"**

2-4 OCTOBER 1995, BUDAPEST



Az MTA Peptidkémiai Kutatócsoportja (ELTE Szerves Kémiai Tanszék) látta vendégül az Európai Közösség PECO/COST programja által támogatott "Synthetic Polymers in Drug Delivery Research (SPIDER)" hálózat (CIPA 4031) soron következő tudományos konferenciáját. Az 1993 őszén indult együttműködésben 7 ország (Anglia, Írország, Spanyolország, Belgium, Finnország, Csehország és Magyarország) 14 laboratóriuma vesz részt, Dr Len Seymour (University of Birmingham) koordinálása mellett. A 3 éves program, amelynek költségvetése 100 000 ECU, vendégkutatók fogadását, tudományos konferenciák szervezését és rövid 1-2 hónapos tanulmányutak lebonyolítását teszi lehetővé. Az 1995 évi tudományos ülésszakon, amelynek házigazdái, Dr Hudecz Ferenc tudományos tanácsadó (MTA-ELTE Peptidkémiai kutatócsoport) és Dr Pató János tud. főmunkatárs (MTA, KKKI), 18 előadás hangzott el polimerekhez kapcsolt enzim-inhibitorok, tumorgátló szerek és oligonukleotideok szintéziséről, kémiai jellemzéséről és orvosbiológiai hasznosíthatóságukról.

Az alábbiakban közöljük a konferencia programját és felhívjuk a figyelmet arra, hogy ez a hálózat nyitott további tudományos együttműködések kialakítására. A budapesti ülésszak megrendezését az ELTE és az MTA támogatta.

SCIENTIFIC PROGRAMME

János Pató

Central Research Institute for Chemistry, Academy of Sciences, Budapest, Hungary
Synthesis and antitumor activity tests of NVP MA-peptide hormone conjugate

Mirek Subr

Institute of Macromolecular Chemistry, Prague, Czech Republic
Synthesis of poly(HPMA) conjugates of amiloride

Ferenc Hudecz

Research Group of Peptide Chemistry, Eötvös University, Budapest, Hungary
Synthesis and chemical characterisation of drug/enzyme inhibitor-branched polypeptide conjugates

Peter Baker

Department of Surgery, Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, England
Inhibition of uPa and breast cancer cell invasion by hexylamino-amiloride and its polymer conjugates

Dezső Gaál

National Institute of Oncology, Budapest
Toxicological, immunological and antitumor effect of daunomycin-polymer conjugates

Blanka Rihova

Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences, Prague
How to increase the efficacy of drug targeting?

Mini Symposium on Polymeric Vectors for Delivery of DNA

László Pöppel

Department Analytical Chemistry, Eötvös University, Budapest, Hungary
Thermoanalytical studies in macromolecular sciences

Colin Pouton

School of Pharmacy, University of Bath, England

The efficiency of gene transfer to B16 murine melanoma cells: polyamines versus liposomes

Etienne Schacht

Department of Organic Chemistry, University of Gent, Belgium

Synthesis and characterization of poly(ethylene oxide-co-L-lysine) block copolymers

Heidi Soyez

Department of Organic Chemistry, University of Gent, Belgium

Polymeric prodrugs of Mitomycin C

Philip Dash

Institute for Cancer Studies, University of Birmingham, England

DNA: Polycation complexes. Formation and stability

Margreet Wolfert

Institute for Cancer Studies, University of Birmingham, England

Influence of molecular weight on size and biological properties of polyelectrolyte complexes formed with DNA

Martin Garnett

Department of Pharmaceutical Science, University of Nottingham, England

Interaction of cationic polymers with DNA

Arto Urtti

Pharmaceutical Technology, University of Kuopio, Finland

Cationic lipids in polynucleotide delivery

Wolfgang Zauner

Bender & Co. Tumor Vaccines, Vienna, Austria

Receptor-mediated gene transfer: towards synthetic virus-like systems

Mini Symposium on New Approaches to Drug Targeting

Neil Graham

Department of Pure and Applied Chemistry, University of Strathclyde, Glasgow

Microgels as potential carriers for oligo-nucleotides

Jukka Mönkkönen

Pharmaceutical Technology, University of Kuopio, Finland

Liposomal targeting of bisphosphonates - a new approach for the treatment of rheumatoid arthritis?

Nicholas James

Institute for Cancer Studies, University of Birmingham, England

Boron neutron capture therapy

EGYESÜLETI ÉLET

A Magyar Biokémiai Egyesület 2. Nemzetközi Konferenciája keretében Szegeden, 1995. augusztus 22-én tartott Küldöttközgyűlés megválasztotta az egyesület elnökévé Friedrich Pétert, valamint a mellékelt listán szereplő elnökségi tagokat. Mivel a Közgyűlés nem döntött a főtitkár és egyéb tisztségviselők személyében, ezt a szavazást az elnökség tagjai posta útján végezték el.

A szavazás eredménye alapján az MBKE Intéző Bizottságának tagjai az alábbi személyek lettek:

Elnök: Friedrich Péter

Elnökhelyettesek:
(3 fő)

Sarkadi Balázs (általános)
Faragó Anna (ösztöndíj, pályázat)
Vígh László (konferencia tanácsadó)*

Főtitkár: Csermely Péter

Főtitkár helyettes: Szajáni Béla (gazdasági)

**Javasoljuk, hogy az egyik elnökhelyettes mindig az elmúlt konferencia elnöke legyen; feladata a következő konferenciával kapcsolatos tanácsadás.*

* * *

Az Intéző Bizottságnak tagjai még

- a regionális képviselők: Debrecen: Tózsér József
Pécs: Sümegei Balázs
Szeged: Borsodi Anna
(őket a régiók választják)

- a következő konferencia elnöke: Sümegei Balázs (Pécs)

A Világbank Magyarországi Irodája James D. Wolfensohn elnök úr részére

lapjainkban

– (2 részlet egy közérdekű levélből)

E levél megírására az a benyomás készítetett bennünket, hogy az IMF által közölt feltételekkel nem szabad szerződni, azok a feltételek nemcsak teljesíthetetlenek, de a Valutaalap Magyarországon is törvénybe iktatott alapokmányával is szembenállnak. Az alapokmány ugyanis előírja, hogy az IMF egész politikájával, minden döntésében és maradéktalanul járuljon hozzá hazánkban a foglalkoztatottság s a reáljövedelem növeléséhez.

Az IMF közölt elvárásai, úgy tűnik, szemben állnak a Világbank alapokmányával is, mely ugyancsak arra kötelezi a szervezetet, hogy minden döntésével mozdítsa elő a tagországban – Magyarországon – az életszínvonal emelését, a munkakörülmények javítását, a termelőeszközök fejlesztését és döntéseiben különösen legyen tekintettel a tagország területén érvényesülő üzleti viszonyokra. Ahhoz, hogy az Ön által vezetett szervezet e feltételeknek megfelelhessen, olyan megállapodásra van szükség az IMF-fel, mely a magyar gazdaság és a lakosság életminőségének fejlődését támogatja.

Mindkét szervezetnek 1982 óta tagja Magyarország. Amennyiben megvizsgáljuk a magyar ipari és mezőgazdasági teljesítmény és foglalkoztatottság mutatóit, nemcsak szembeötlő ez idő alatt a folyamatos hanyatlás, de egyenesen döbbenetes az elmúlt öt évben. Massimo Russo igazgató úr levelében öt pontban foglalta össze az IMF követelményeit 1996-ra és 1997-re:

I.) A nettó adósságállomány csökkenjen a következő két költségvetési évben és a fizetési mérleghiány évi kétmilliárd dollár alá essen.

II.) Az államháztartás és a társadalombiztosítás együttes hiánya a GDP négy százaléka alatt maradjon.

III.) Visszafogott bérfejlesztéssel növekedjen a versenyképesség és tíz százalékra csökkenjen az inflációs ráta 1996 utolsó negyedévére.

IV.) Szigorú monetáris és hitelpolitika, csak a csökkenő inflációs várakozást követő kamatmérséklés, de semmiképpen sem jegybank által forszírozott kamatcsökkentés.

V.) Gyors vállalat- és bankprivatizációval javuljon a gazdaság szerkezete és a bevétellel mérséklődjék a külső adósság. Emellett csökkenjen az állami intézmények és az ott dolgozók száma, átszervezendő a társadalombiztosítás.

Massimo Russo úr szerint ez az egyetlen lehetséges gazdaságpolitika „közös céljaink eléréséhez”.

E helyen nem kívánjuk mérlegelni, valóban közösek-e a céljaink; mennyire azonos a sikerben vagy kudarcban való részesedésünk. Azt azonban meg kell fontolnunk, hogy az elvárások (feltételek) teljesíthetők-e, célravezetők-e, azaz alkalmasak-e Magyarország hosszú távú stabilitásának és ezen keresztül a világ pénzügyi rendszere egyensúlyának elősegítésére. Véleményünk szerint nem.

Tisztelt Wolfensohn Úr!

Látogatása során talán Ön is érzékelni fogja, hogy országunkban széles körű a szociális nyugtalanság, helyi és ágazati sztrájkok vannak kibontakozóban. A rendőrség a tüntetések „kezelésére” erősíti magát, de a feketegazdaság ellen és a bűnüldözésre nincs elegendő pénz. Társadalmunk széles rétegei értetlenül állnak a jelenlegi folyamatok előtt és szociálisan, egészségügyileg megrokkant állapotban kilátástalanságot éreznek. A múlt évben Nobel-díjat kapott magyar születésű és magyar iskolázottságú amerikai mérnök az oktatásügyben látta a kitörés lehetőségét – mint oly sokan mások is –, de ma már Magyarországon az elemi iskolázottság megszerzése is súlyos nehézséget jelent. Az ugyancsak múlt évben Nobel-díjat kapott magyar születésű és magyar képzettségű közgazdász professzor is teljesen értetlenül állt az itteni gazdaságpolitika előtt. Ugy tűnik, e folyamatokat nem érti sem az utca embere, sem a Nobel-díjas professzor. Éppen ezért tisztelettel kérjük Önt és az irányításával működő sok ezer szakembert, hogy ne a „strukturális reform”, „államháztartási reform”, „Bokros-csomag”, „gyors privatizáció” sokféleképpen értelmezhető általánosságával próbálják meggyőzni a közvéleményt, mert ezek a legrosszabb tervutasításos idők hivatalos „érvelésére” emlékeztetik az itteni embereket, hanem az IMF által igényelt gazdaságpolitika helyességéről a konkrét tények és előreszámítások nyilvánosságra hozatalával győzzék meg a magyar lakosságot. Véleményünk szerint csak a bizonyítottan teljesíthető és célravezető kritériumok alapján lehet korrekt szerződést kötni.

Budapest, 1995. október 27.

Dr. Andor László
közgazdász

Dr. Csath Magdolna
közgazdász, egyetemi tanár

Dr. Fecske Mihály
közgazdász, egyetemi tanár

Dr. Gidai Erzsébet
közgazdász, egyetemi tanár

Dr. Kopátsy Sándor
közgazdász, kandidátus

Dr. Kovács János
közgazdász, kutató

Lóránt Károly
közgazdász

Dr. Mandel Miklós
közgazdász, egyetemi tanár

Dr. Mocsáry József
közgazdász, kandidátus

Dr. Nagy Pongrác
közgazdász

Németh Tibor
közgazdász

Dr. Pécsi Kálmán
egyetemi tanár

Síklaky István
közgazdász

Dr. Szokolczai György
egyetemi tanár

Dr. Szita Tamás
közgazdász

Dr. Tóth Barna
politikai tud. doktora

Varga István
okl. gépészmérnök

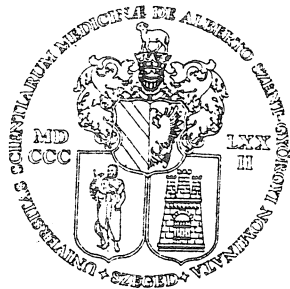
Jegyzet ismertetés

Bánfalvi Gáspár: Molekuláris Biológia

(JATE Press, 20 fejezet, 401 oldal, 219 ábra)

Bánfalvi Gáspár a SOTE I.sz.Kémiai-Biokémiai Intézetének docense meghívott előadónaként 5 éve tart molekuláris biológiai tárgyú előadásokat és speciál kolégiumokat a JATE Biokémiai Tanszékén. A Molekuláris Biológia jegyzet a Tanszék felkérésére a Pro Renovanda Cultura Hungariae Alapítvány támogatásával készült. Bemutatására a budapesti, debreceni, pécsi és szegedi Tudomány és Orvostudományi Egyetemek professzorainak és vezető oktatóinak részvételével a Magyar Biokémiai Egyesület 2.Nemzetközi Konferenciája alkalmából Szegeden került sor augusztus 21-én.

A jegyzet bevezető két fejezete a sejt szerkezetével és funkciójával, valamint a metabolizmus fejezete a molekuláris biológiai folyamatok anyagi és energetikai alapjaival foglalkozik. Az információ-átviteli folyamatok kapcsolatrendszerét tekinti át a 3.fejezet. Ezt követi az in vivo információ-átvitel folyamatainak részletes ismertetése, kezdve a nukleinsavak építőköveivel, a nukleinsavak strukturális szerveződésével és a kromoszómákkal. Folytatódik a mutáció, repair, onkogén hatás, rekombináció és transzpozíció, DNS replikáció, reverz transzkripció, genetikai kód, fehérjeszintézis, fehérje céltranszport, sejt-sejt kölcsönhatás és génműködés szabályozása c.fejezetekkel. A záró fejezet az in vitro információ-átvitelt tárgyalja és összefoglalja a rekombinációs DNS technika eredményeit. - A jegyzet 1996 első negyedévében kerül forgalomba.



MÁSODIK SZENT-GYÖRGYI NAPOK

Szeged, 1995. szeptember 13 - 15.

A célkitűzésnek megfelelően az igen változatos program az orvostudomány elméleti és gyakorlati ágainak

széles skáláját ölelte fel: Képzéssel kapcsolatos előadások

Farmakológiai előadások

Sebészeti és kardiológiai előadások

Neurobiológiai előadások

Élettani-kórélettani előadások és

Hematológiai-onkológiai előadások

hagzottak el az Egyetem Oktatástechnikai központjában.

A záró napon került sor a díszdoktorok felavatására a Szegedi Akadémiai Bizottság Székházának előadótermében. Ezuttal Prof. KOVÁCS Kálmán, Kanada, Prof.Erich KÖRBER, Németország, Prof. Michael McMAHON, Nagy-Britannia, Prof.Shaul G.MASSRY, Egyesült Államok, Prof.Peter PELEGEL, Németország és Prof.Jos ROELANDT, Hollandia nyerték el a kitüntető címet.