

BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület tájékoztatója
Quarterly Review of the Hungarian Biochemical Society

Szerkesztőbizottság:

ALKONYI ISTVÁN, BÁNFALVI GÁSPÁR, ELÓDI PÁL, FALUS ANDRÁS, FÉSÜS LÁSZLÓ,
GERGELY PÁL, HUDECZ FERENC, NYESTE LÁSZLÓ, SARKADI BALÁZS

Felelős szerkesztő:
SZÉKÁCS ANDRÁS

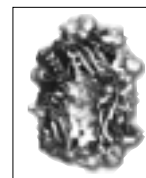
XXII. ÉVF. 3. SZÁM

1998. SZEPTEMBER

A tartalomról:

- ◇ Az oligopeptidáz rejtély – *Polgár László, Fülöp Vilmos, Böcskei Zsolt és Szeltner Zoltán*
- ◇ A dineinek: motorok a sejtmozgásban és az anyagszállításban – *Belec István és Szabad János*
- ◇ Környezetszennyező veszélyes hulladékok biológiai lebontása – *Perei Katalin, Bihari Zoltán, Kesserű Péter, Polyák Béla, Bodrossy Levente, Rákhely Gábor és Kovács L. Kornél*
- ◇ Élménybeszámoló a 25. FEBS kongresszusról – *Dombrádi Viktor*
- ◇ Vámkaland – *Csermely Péter*
- ◇ Van, aki forrón szereti?! – *Bélafiné dr. Bakó Katalin*
- ◇ Miből lesz a cserebogár?
Rövid beszámoló a „Formaldehid szerepe biológiai rendszerekben – Metilezési és demetilezési folyamatok” címmel rendezett 4. Nemzetközi konferenciáról – *Tyihák Ernő*
- ◇ A Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológia Szakosztályának 3. Munkaértekezletéről – *Boros Imre*
- ◇ Membrántechnika (folyóirat-ismertető)
- ◇ 10th International Symposium on Purines and Pyrimidines in Man / First Circular
- ◇ 7th Symp. Eur. Soc. for the Study of Purine and Pyrimidine Metabolism in Man / First Ann.
- ◇ Intl. Symp. and Training Course on the Newest in Developmental Genetics / Announcement

Címlapkép: *A prolin oligopeptidáz molekula modellje. A kettőbe vágott molekula hatalmas üregében kovalensen kötött inhibitor ábrázoltunk. Felül helyezkedik el a proteáz domén, alul a propeller (engedélyezett újraközlés / reproduced with permission, Cell, 94: 161–170 (1998); ld. Polgár és mtsai vonatkozó kutatói közleményét a 49–52. oldalakon).*



Contents:

- ◇ The oligopeptidase mystery – *László Polgár, Vilmos Fülöp, Zsolt Böcskei and Zoltán Szeltner*
- ◇ The dyneins: motors in cellular motion and material transport – *István Belec and János Szabad*
- ◇ Biological decomposition of hazardous environmental contaminants – *Katalin Perei, Zoltán Bihari, Péter Kesserű, Béla Polyák, Levente Bodrossy, Gábor Rákhely and Kornél L. Kovács*
- ◇ Travelogue on the 25th FEBS Congress – *Viktor Dombrádi*
- ◇ Adventure with the customs – *Péter Csermely*
- ◇ Some Like it Hot! – *Katalin Bakó-Bélafi*
- ◇ Tall oaks from little acorns grow. Short report on the 4th International Conference titled “The Role of Formaldehyde in biological systems – Methylation and demethylation processes” – *Ernő Tyihák*
- ◇ On the 3rd Conference of the Molecular Biology Section of HBS – *Imre Boros*
- ◇ Membrane technique (information release on a new periodical)
- ◇ 10th International Symposium on Purines and Pyrimidines in Man / First Circular
- ◇ 7th Symp. Eur. Soc. for the Study of Purine and Pyrimidine Metabolism in Man / First Ann.
- ◇ Intl. Symp. and Training Course on the Newest in Developmental Genetics / Announcement



Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület, 1518 Budapest, Pf. 7.
Felelős kiadó: Dr. Friedrich Péter
Készült a dART studio gondozásában.
Az engedély száma: III/SZI/397/1977 HU ISSN 0133-8455

Az oligopeptidáz rejtély

Polgár László¹, Fülöp Vilmos², Böcskei Zsolt³, Szeltner Zoltán¹

¹MTA SzBK Enzimológiai Intézet, ²Laboratory of Molecular Biophysics, Oxford, ³Chinoin Gyógyszer és Vegyszeti Termékek Gyára Rt. és ELTE Elméleti Kémia Tsz.

A proteázoknak – az új nevezéktan szerint peptidázoknak – van egy érdekes csoportja, amelyhez tartozó enzimek a szubsztrát nagysága szerint változnak, mégpedig úgy, hogy a körülbelül 30 aminosavnál nagyobb peptideket nem képesek hidrolizálni, még akkor sem, ha azok denaturált állapotban vannak. Nagyon valószínű, hogy ezeket az oligopeptidázokat egy eddig ismeretlen mechanizmus akadályozza meg abban, hogy a sejt fehérjében kárt tehessenek. Más esetekben az történik, hogy a peptidázok a sejten belül lizoszómákba csomagolva vagy zimogén formában fordulnak elő, és csak a szükséges helyen és időben aktiválódnak. Alapvető fontosságúnak látszott az a kérdés, vajon mi a szerkezeti alapja az oligopeptidáz aktivitásnak, vagyis mi az, ami az oligopeptidázt megkülönbözteti egy közönséges endopeptidáztól.

A protil oligopeptidáz jellemzői

A kilencvenes évek elején kezdtünk el részletesebben foglalkozni a protil oligopeptidázzal, amit akkor még protil endopeptidáznak, még korábban pedig prolin után hasító enzimnek neveztek, mivel meglehetősen specifikusan hasít a prolin karboxilcsoportjánál. Megállapítottuk, hogy ez a szerin peptidáz több vonatkozásban különbözik a jól ismert tripszin és szubtilizin család enzimjeitől [1], és hogy más peptidázokkal együtt egy új enzimcsaládot alkot, amelyet protil oligopeptidáz családnak neveztünk el [2]. A névadó enzim mellett ebbe a csoportba tartoznak olyan fiziológiailag fontos enzimek mint az acilaminoacil peptidáz, a dipeptidil peptidáz IV vagy az *E. coli*-ban található oligopeptidáz B. Ezek az enzimek lényegesen nagyobbak (80 kD) mint a tripszin vagy a szubtilizin (25–30 kD), és feltételeztük, hogy a peptidáz domén mellett létező másik, ismeretlen domén a felelős az oligopeptidáz szelektivitásáért [3].

Az enzim vizsgálatát az is indokolta, hogy több fontos fiziológiai folyamatban is részt vesz, így az ellene tervezett inibitorok a gyógyszergyártásban hasznosulhatnak. Ismeretes például, hogy a patkányokban szkopolaminnal indukált amnézia javítható a protil oligopeptidáz gátlásával [4,5]. Ebből kiindulva több gyógyszergyár végez inibitorokkal kísérleteket.

A protil oligopeptidázt specifikusa is jelentősen megkülönbözteti a tripszin és szubtilizin típusú enzimektől, amelyek nem képesek a prolin mellett hasítani. Ez abból adódhat, hogy a prolin nem igazi aminosav, hanem iminosav: hiányzik a főlánc NH-csoportja, amelynek fontos szerepe van mind a tripszin, mind a szubtilizin katalitikus működésénél [6]. Ezért a protil oligopeptidáz aktív centrumának szerkezete, legalábbis bizonyos vonatkozásokban, várhatóan különbözik az ismert szerin peptidázokétól. Ezt támasztják alá az egyesült államokbeli Rutgers Egyetemmel közösen végzett ¹H NMR vizsgálataink [7], melyek kimutatták, hogy az eddig ismert szerin proteázokban talált magas frekvenciájú hidrogénhid, amely a katalitikus triád Asp és His oldalláncai között található, sem a protil oligopeptidáznál, sem pedig az oligopeptidáz B esetében nem létezik.

A protil oligopeptidáz reakciójának pH-függése is jelentős eltérést mutatott a hisztidin disszociációjára jellemző egyszerű görbétől, amely a tripszin és a szubtilizin család enzimjeinek katalízisére jellemző. Ez arra engedett következtetni, hogy a protil oligopeptidáznak két aktív formája vesz részt a katalízisben és világosan mutatta, hogy a hisztidin pK_a-ja lényegesen kisebb (<5) az általában tapasztalt értéknél (~7). A sebességmeghatározó lépés a tripszin és a szubtilizin család enzimjeinél az általános sav/bázis katalízis, tehát egy kémiai lépés. Ez jól kimutatható, ha a katalízist nehézvízben mérjük, ahol az általános sav/bázis katalízis 2-3-szor lassabban megy végbe. A protil oligopeptidáz esetében viszont nem találtunk nehézvízhatást, ami arra utalt, hogy a sebességmeghatározó lépés itt fizikai természetű, feltehetően a konformációváltozás [8].

A sebességmeghatározó lépés mibenlétét a szubsztrát távozó csoportjának variálásával is vizsgáltuk.

Ismeretes, hogy a kimotripszin a nitrofenil-észtereket 3–4 nagyságrenddel gyorsabban hidrolizálja, mint a megfelelő amid szubsztrátokat, ami a két vegyület reaktivitásában mutatkozó különbséggel értelmezhető. Ugyanakkor a prolil oligopeptidáznál nem volt lényeges különbség az észter és az amid szubsztrátok hidrolízise között. Ez is azt mutatja, hogy nem a kémiai lépés a sebességmeghatározó [9].

További különbséget találtunk a prolil oligopeptidáz másodlagos kötőhelyeinek vizsgálatánál. A kimotripszin és szubtilizin a tri-, tetra-, pentapeptid szubsztrátokat sokkal gyorsabban hidrolizálja, mint az egyszerű aminosav- vagy dipeptidszarmazékokat. A hasítandó kötéstől távolabbi aminosavak ugyanis az enzimmal egy β -lemezt alkotnak. Ezzel ellentétben a prolil oligopeptidáz a hosszabb peptideket lassabban hidrolizálja, feltehetően nem rendelkezik az analóg másodlagos kötőhelyekkel, vagy a nagyobb peptidek nehezebben jutnak el az aktív centrumhoz [3].

Az oligopeptidáz-szerkezet

Az oligopeptidázok katalitikus doménjének szerkezetére a lipázok háromdimenziós struktúrája alapján következtethetünk. Ezek is hasonló katalitikus triáddal (Ser, His, Asp) működnek mint a szerin peptidázok. A szerinnek és a hisztidinnek az aminosav-szekvenciában való sorrendje azonban éppen fordított, mint a tripszinben vagy a szubtilizinben, de megegyezik az oligopeptidázokéval. A lipázok és az oligopeptidázok összehasonlításával a triád harmadik tagját, az aszparaginsavat is sikerült azonosítanunk, mivel nemcsak a katalitikus csoportok körüli aminosavak voltak hasonlóak, hanem a triád topológiája is. Ebből arra következtethetünk, hogy a C-terminális peptidáz domén térbeli váza a lipázokéhoz hasonló α/β -szerkezet [10]. Mind a peptidáz, mind az ismeretlen domén szerkezetéről pontos képet kaptunk a röntgen-diffrakciós vizsgálatok segítségével. E vizsgálatoknak az első feltétele az enzim kristályosítása volt. Hosszas próbálkozás után használható kristályokat kaptunk [11], de a nehézfém-szarmazékok előállítására problémát jelentett. Később sikerült javítanunk a kristályok minőségét, és szinkrotron sugárzás segítségével rendkívül jó felbontást értünk el (1,4 Å) [12].

A szerkezet meghatározása világosan mutatta, hogy a molekula két fontos részből tevődik össze [12]. Az egyik a peptidáz domén, ami a katalitikus triádot tartalmazza (Ser554, Asp641, His680), a másik egy hétlemezes β -propeller (1. ábra). A proteáz részt az 1-72 és a 428-710 aminosavak alkotják. Az utóbbi – a C-terminális domén – felel meg a lipázok struktúrája alapján becsült α/β hidroláz szerkezetnek, ami egy nyolcszálú csavart β -lemezből áll, melynek egyik oldalán két, a másikon hat hélix található.



1. ábra A prolil oligopeptidáz szerkezete. Felül a peptidáz, alul a propeller domén.

A nemkatalitikus domén a 73-427 aminosavakból épül fel. Ez a domén egy kisszámú, de egyre gyarapodó, kevéssé ismert szerkezeti csoportba, az úgynevezett β -propellerek közé tartozik. A propeller lapátjai sugarasan helyezkednek el egy központi csatorna körül (2. ábra). Az egyes lapátok 4 antiparalel β -szálból épülnek fel, és az első lapát utolsó szála egy hurokkal kapcsolódik a következő lapát első szálához és így tovább. Eddig 4, 6, 7 és 8 lapátos propellereket találtak [13]. A prolil oligopeptidáz a G protein β -alegységéhez hasonlóan 7 lapátot tartalmaz. Alapvető különbség van azonban az összes eddig ismert propeller és a prolil oligopeptidáz nemkatalitikus doméje között. Míg ugyanis a prolil oligopeptidáznál az első és utolsó lapát

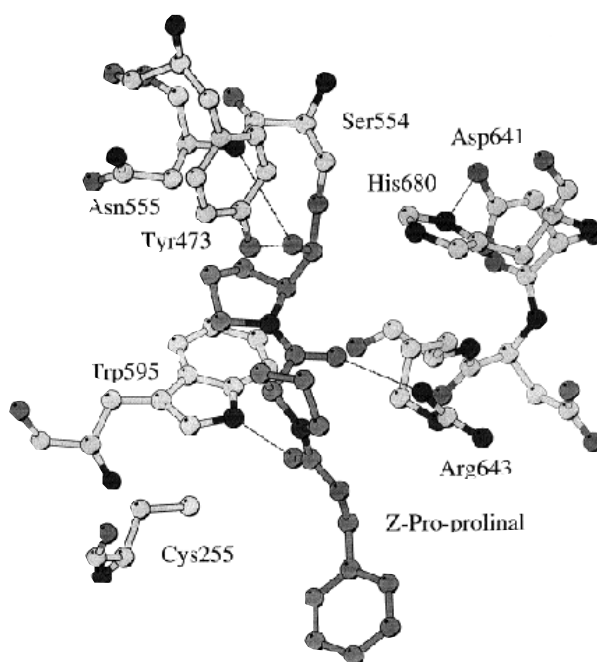
között csupán gyenge hidrofób kölcsönhatás jön létre, addig a többi esetben a propeller szigorúan zárt. Ez két módon valósul meg: (1) az utolsó lapát a propeller domén két végéből épül fel, (2) a két véget diszulfidhíd köti össze. A prolil oligopeptidáz nemkatalitikus doménje kevésbé szabályos és kevésbé kompakt, mint a zárt β -propellerek. A β -propeller szorosan kapcsolódik a prolil oligopeptidáz katalitikus doménjéhez, a két összekötő főláncon kívül 27 hidrogénhíddal, sókötésekkel és hidrofób erőkkal.



2. ábra A β -propeller domén. Az 1. ábrán mutatott szerkezet alulról nézve.

Enzim-szubsztrát/inhibitor kölcsönhatás

A propeller – mint egy lyukas búra – borítja be az aktív centrumot, amely ezáltal egy hatalmas üreg falának kis részében, a propeller centrális bejáratával szemben helyezkedik el (lásd a színes címlapábrát). A szubsztrát kötődését egy átmeneti analóggal, a Z-Pro-prolinallal (Z = benziloxi-karbonil) vizsgáltuk. A színes ábrán jól látható, hogy a zölddel jelzett molekula az üregnek csak nagyon kis részét foglalja el. Ez az aldehid inhibitor kovalens hemiacetált képez a katalitikus szerin OH-csoportjával [14]. Ezt igazolja a röntgen-diffrakciós szerkezet (3. ábra), de szemben a tripszinnél és a szubtilizinnél tapasztaltakkal, itt a szubsztrát karbonil szénatomját a szerin oxigénje az ellenkező oldalról támadja.



3. ábra A prolil oligopeptidáz aktív centrumának környéke a kovalensen kötött Z-Pro-prolinallal.

Egy másik fontos különbség az oxianion kötőhely felépítése. A szerin proteázoknál a negatív töltéssel rendelkező tetraédes intermediert két hidrogénhíd stabilizálja: a tripszincsalád enzimjeinél két peptid NH, a szubtilizineknél pedig egy peptid NH és egy Asn oldallánc amid [6]. A prolil oligopeptidáznál a főlánc NH (Asn555) mellett a másik hidrogénhidat a Tyr473 OH-csoportja adja (3. ábra). Ez lényegesen eltérő kölcsönhatást jelent, mivel az aromás hidroxilcsoport sokkal savanyúbb, mint a peptid- vagy az amidcsoport, s ennek következtében a hidrogén donor könnyen protonálhatja a bázikus oxigénatomot, ami a tetraédes intermedierek nagyobb stabilizálást biztosít. A Tyr OH-csoportjának szerepét helyspecifikus mutagenézissel is igazoltuk. A tirozin fenil-alaninra történő cseréje ugyanis az enzim aktivitását két nagyságrenddel csökkentette.

A prolin oldallánc rendkívül pontosan illeszkedik az S1 helyen, amelyet csupa hidrofób oldallánc alkot (Trp595, Phe476, Val644, Val580, Tyr 599). Ezek között a Trp595 oldallánca látszik a legfontosabbnak, amellyel a prolingyűrű párhuzamosan, van der Waals távolságra helyezkedik el (3. ábra). Az így kialakult kötőhely jól magyarázza az enzim specifitását. Az S1P1 hidrogénkötés, ami a kimo-tripszin és a szubtilizin katalízisének fontos szere-

pet játszik a kinetikus specificitás növelésében, itt nem alakulhat ki.

Az S2 kötőhely sokkal kevésbé specifikus a szubsztrát oldalláncára, ugyanakkor egy erős S2P2 hidrogénhid képződik a szubsztrát főlánc karbonil oxigénatomja és az Arg643 NH1 atomja között (3. ábra).

Az S3 kötőhely hidrofób aminosavakkal övezett: itt helyezkedik el a Z-Pro-prolinal benzolgyűrűje. Az S3P3 hidrogénhid a P3 aminosav és a Trp595 aromás gyűrűjének nitrogénje között jön létre (3. ábra).

Az enzim szerkezetének ismeretében jól értelmezhetők a katalízissel kapcsolatos eredmények. Így például az enzim nagyobb méretű SH-reagensekkel gátolható, ami arra utal, hogy az aktív centrum közelében van egy cisztein, melynek a blokkolása akadályozza a szubsztrát kötődését [8]. Valóban, az S2 és S3 kötőhelyek között található egy ilyen cisztein, a Cys255 (3. ábra). Jól magyarázható a katalitikus His meglepően alacsony pK_a -ja is (<5). Az imidazolgyűrű közvetlen közelében helyezkedik el az Arg643 guanidiniumcsoportja, amelynek pozitív töltése destabilizálja a protonált hisztidint. Ezt támogatja a rokon oligopeptidáz B vizsgálata is, ahol az arginin helyén glutamin található, s ott a hisztidin pK_a értéke normálisnak tekinthető [15]. Végül a suc-Gly-Pro-Nan (suc = borostyánkősav, Nan = 4-nitroanilid) és a Z-Gly-Pro-Nan közötti jelentős különbséget említhetjük. Szemben a Z-csoport benzolgyűrűvel, a negatív töltésű suc-csoport számára nem megfelelő a hidrofób S3 kötőhely, s ezzel magyarázható a két szubsztrát sebességi állandójában mutatkozó több mint két nagyságrendnyi különbség (Polgár nem közölt eredmény).

A legérdekesebb kérdés természetesen az, hogyan jut be a szubsztrát az üregbe, az aktív centrumhoz. A propeller központi csatornájának bejárata ugyanis túl szűk ahhoz, hogy azon egy peptid beférjen. A bejárat tágulását feltehetően a nyílást részlegesen elfedő oldalláncok elhajlása, valamint a propeller első és hetedik lapátjának eltávolodása segíti, ami más ismert propellerek esetében nem lehetséges. Ebből nyilvánvaló, hogy a katalízisnek jelentős konformációváltozással kell együtt járnia, amire már a kinetikai vizsgálatokból következtettünk, nemcsak a prolil oligopeptidáz, hanem az oligopeptidáz B esetében is [8,9,15].

Irodalom

- [1] Polgár, L. (1994) *Methods in Enzymol.*, **244**: 188-200.
- [2] Rawlings, N.D., Polgár, L. and Barrett, A.J. (1991) *Biochem. J.*, **279**: 907-911.
- [3] Polgár, L. (1992) *Biochemistry*, **31**: 7729-7735.
- [4] Atack, J.R., Suman-Chauhan, N., Dawson, G. and Kulagowski, J.J. (1991) *Eur. J. Pharmacol.*, **205**: 157-163.
- [5] Portevin, B., Benoist, A., Rémond, G., Hervé, Y., Vincent, M., Lepagnol, J. and de Nanteuil, G. (1996) *J. Med. Chem.*, **39**: 2379-2391.
- [6] Polgár, L. (1989) In: *Mechanisms of protease action*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 123-155.
- [7] Kahyaoglu, A., Haghjoo, M., Fusheng, G., Jordan, F., Kettner, C., Felföldi, F. and Polgár, L. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**: 25547-25554.
- [8] Polgár, L. (1991) *Eur. J. Biochem.*, **197**: 441-447.
- [9] Polgár, L. (1992) *Biochem J.*, **283**: 647-648.
- [10] Polgár, L. (1992) *FEBS Lett.*, **311**: 281-284.
- [11] Böcskei, Z., Fuxreiter, M., Náray-Szabó, G., Szabó, E. and Polgár, L. (1998) *Acta Cryst. D*, **50**: in press.
- [12] Fülöp, V., Böcskei, Z. and Polgár, L. (1998) *Cell*, **94**: 161-170.
- [13] Baker, S.C., Saunders, N.F.W., Willis, A.C., Ferguson, S.J., Hajdu, J. and Fülöp, V. (1997) *J. Mol. Biol.*, **269**: 440-455.
- [14] Wilk, S. and Orlowski, M. (1983) *J. Neurochem.*, **41**: 69-75.
- [15] Polgár, L. (1997) *Proteins: Struct. Funct. Genet.*, **28**: 375-379.

A HYD KUTATÓ-FEJLESZTŐ KFT.

kutatási célra kínál

CSÖKKENTETT DEUTÉRIUMTARTALMÚ VIZET

(Deutériumtartalom 25 ± 3 ppm)

Megrendelési információ:

HYD KUTATÓ-FEJLESZTŐ KFT.

1539 Budapest, 114. Pf. 695.

Fax: 319-8976

További információ:

<http://www.hyd.hu>

A dineinek: motorok a sejtmozgásban és az anyagszállításban

Beleczy István és Szabad János

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem,
Orvosi Biológiai Intézet, 6720 Szeged,
Somogyi B. u. 4; tel./fax: (62) 312-622;
e-mail: beleczy@comser.szote.u-szeged.hu,
szabad@comser.szote.u-szeged.hu

Összefoglalás

Az eukarióta sejtekkel kapcsolatos mozgások és a sejteken belüli anyagszállítás az ún. motorfehérje molekulákkal (mechanoenzimokkal) kapcsolatos. A motorfehérjék – miközben konformációjuk az ATP-ben raktározott energia rovására változik – a mikrotubulusok vagy a mikrofilamentumok, a sejt-váznak a mozgásokkal kapcsolatos elemei mentén haladnak, és terhet szállítanak. Olykor jelentős távolságot tesznek meg. A motorfehérjéknek három típusa ismeretes: a **miozinok** a mikrofilamentumok mentén, míg a **kinezinok** és a **dineinek** a mikrotubulusok (MT-ok) mentén vándorolnak. A kinezinok és a dineinek a MT-ok plusz (+) illetve mínusz (-) vége felé haladnak. Amíg az ún. csilló dineinek a csillók és a flagellumok mozgásában játszanak szerepet, a citoplazmatikus dineinek a sejten belül szállítanak molekulákat, sejt szervecskéket. Összefoglalónk a dineinek szerkezetét és szerepét tekinti át.

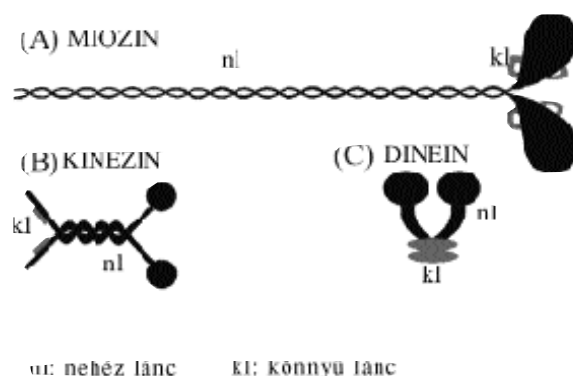
A dineinek osztályozása

Bár a MT-ok szerepét a csillók és a flagellumok szerveződésében és funkciójában már csaknem ötven éve ismerik, a kromoszómák szegregációjában és a sejt szervecskéké szállításában betöltött szerepüket csak mostanában kezdték megérteni. Kiderült, hogy a MT-okhoz ún. mikrotubulusokkal asszociáló proteinek (amelyeket a szakirodalom MAP-nak nevez) kapcsolódnak. A MAP-ok a MT-okat stabilizálják, vagy a sejtalkotókhoz kapcsolják azokat. A MAP-ok egyik csoportját azok az ún. motorfehérjék alkotják, amelyek – miközben a MT-okon haladnak – valamilyen terhet szállítanak. A motorfehérjéknek két típusa van. A **kinezinok** az ún. plusz (+) motorok: a MT-ok mínusz (-) vége irányából a plusz (+) vég felé haladnak.

A **kinezinok**, amelyek a fehérjéknek egy meglehetősen szerteágazó csoportját alkotják, fontos szerepet játszanak a mitózisban, a meiózisban, a sejt szervecskéké szállításában valamint az ún. axonális transzportban. Az axonális transzport során a kinezinok egyebek között neurotranszmitter molekulákkal töltött hólyagocskákat szállítanak az axonok MT kötegei mentén az idegsejtek testéből az axonok végeihez. A **dineinek** a mínusz (-) motorok: a MT-ok mínusz (-) vége felé haladnak. A dineineknek két csoportja van: az ún. *csilló dineinek* (amelyeket *axonémális dineineknek* is neveznek) keltik azokat az erőket, amelyek a csillók és a flagellumok mozgásához vezetnek, amint arról a későbbiekben szólni fogunk. A *citoplazmatikus dineinek* a sejt szervecskéket és a kromoszómákat szállítják a sejteken belül [1].

A dineinek szerkezete

Egy-egy motorfehérje több fehérje alegységből épül fel. Egy tipikus miozinmolekula pl. két nehéz és négy könnyű láncból áll (1. *ábra*, A). A nehéz lánc farki része ún. kettős tekerccset (coiled-coil) alkot. A farkrésszel kapcsolódnak a miozinmolekulák a sejt hártárhoz vagy egymáshoz, hogy az izmokból jól ismert miozin köteget alkossák. A miozin nehéz lánc azzal a globuláris részével kapcsolódik az aktin mikrofilamentumokkal, amelynek ATP-áz aktivitása van [4].



1. *ábra* A három motorfehérje szerkezete sematikusan: miozin (A), kinezin (B) és dinein (C).

Egy kinezinmolekulát két nehéz és két könnyű lánc alkot. A nehéz lánc alkotója a globuláris feji rész és a nyél. A könnyű láncok a kinezin nyeléhez kapcsolódnak (1. ábra, B). Egy dineinmolekula két vagy három nehéz láncból (Dnl) és nem pontosan meghatározott számú könnyű, valamint közepes méretű láncból áll (1. ábra, C). A dineinek valódi óriások: egy dineinmolekula tömege több mint 1000 kD [1, 2].

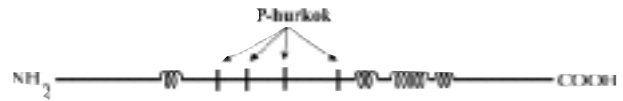
A csilló dineinek vizsgálata a dineinek következő közös jellemzőire derített fényt.

1. Valamennyi dineinnek mínusz (-) vég irányú motor aktivitása van.
2. Egy Dnl molekula tömege több mint 400 kD.
3. A dineineknek ATP-függő MT-kötő képessége van.
4. A natív dineinek szedimentációs állandója kb. 20S.
5. A dineinek ATP-áz aktivitását a vanádium már kis koncentrációban is gátolja.
6. A Dnl-okat ATP és vanádium jelenlétében az ultrabolya sugárzás hasítja. A hasítás más-más helyen történik Mg^{2+} és Mn^{2+} jelenlétében. (A miozin- és a kinezinmolekulákat az ultrabolya sugárzás nem hasítja a fenti körülmények között.) Érdekes, hogy a csilló dineinek nukleotid trifoszfát specificitása (ATP>GTP>CTP) más, mint a citoplazmatikus dineineké (CTP>GTP>ATP), ami lehetővé teszi a két típus megkülönböztetését. A két dinein típus között olyan további különbségek is vannak, mint pl. a MT-okhoz való kötődés erőssége vagy a MT-okon siklás sebessége [3].

A dinein nehéz lánc

Az első Dnl megismerését követően 14 további különböző Dnl aminosav szekvenciáját írták le különféle fajkból. A Dnl szekvenciák összehasonlító vizsgálata a következőket mutatta meg. A Dnl-ok központi katalitikus egysége négy ún. foszfátkötő hurkot (P-loop) tartalmaz (2. ábra) [2]. Az N-terminális rész meglehetősen divergens, és minden bizonnyal az izoforma-specifikus funkcióért felelős. Várható, hogy a C-terminális vég α -helikális kettős tekercset képez. Az első és a harmadik P-hurkok aminosav-szekvenciája tökéletesen azonos az összes ismert citoplazmatikus dineinben, ami a P-hurkok alapvető szerepét jelzi a dinein funkcióban. Az első és a negyedik P-hurkok teljes mértékben megőrződtek valamennyi csilló dineinben.

Általánosan elfogadott vélemény szerint az első P-hurok változatlan aminosav-sorrendje az ATP kötés és hidrolízis helye. Bár a második, harmadik és negyedik P-hurok pozíciója azonos minden Dnl központi katalitikus részében, szerepük sem a dinein szerkezetének kialakításában, sem pedig a motor funkcióban nem ismert [4].



2. ábra A dinein nehéz lánc szerveződése. A spirál a molekulának azt az α -helikális részét reprezentálja, amely a kettős tekercs képződésében játszhat szerepet.

A *Chlamydomonas* ostoros zöldmoszat egyik csilló dinein mutánsának vizsgálata mutatta meg, hogy a Dnl N-terminális felőli 160 kD-nyi része a dinein nyelének alkotója, és szükséges ahhoz, hogy a dinein kapcsolódni tudjon a flagellum axonémájával, valamint a könnyű és a közepes méretű láncokkal is. A Dnl N-terminális részének divergenciája minden bizonnyal azt tükrözi, hogy a különféle Dnl-ok különféle terhekkel kapcsolódnak [10].

Nyolc különböző faj Dnl aminosav-szekvenciájának összehasonlítása nyomán derült arra fény, hogy a C-terminális körüli rész is divergens, és 300 aminosavval hosszabb, mint az élesztőkben. E megfigyelés arra enged következtetni, hogy a dineinek C-terminális körüli része fajspecifikus Dnl funkciót képvisel [10]. A különféle fajok Dnl géneinek klónozása nyomán nyílik majdan lehetőség csonka és kiméra Dnl-ok előállítására, azok bejuttatására a fajokba. A megváltozott funkció alapján lehet majd feltérképezni a Dnl-ok különböző szakaszainak jelentőségét a dineinek funkciójában.

A csilló és a citoplazmatikus dineinek Dnl-ainak globuláris feji és a flexibilis nyél részeiben β -lemezek, β -tekercsek és α -helikális részek keverednek a molekula mentén. (Nem úgy, mint a miozin és a kinezin molekulákban, ahol a különféle szerkezetek jól elkülönülnek.) A muslica (*Drosophila*) Dnl-ában a két leghosszabb α -helikális szakasz a C-terminális közelében van (a 3158-3272. és a 3397-3542. aminosavaknak megfelelő szakaszok között). A két α -helikális szakasz mind a citoplazmatikus, mind a csilló dineinekben evolúciósan megőrzött.

Valószínű, hogy az α -helikális részek a kettős tercers képződésében és a Dnl-ok globuláris részének kialakulásában játszanak szerepet. Az sem kizárt azonban, hogy szerepük van a dinein komplex egy másik alegységének kötődésében és/vagy a dinein funkciójának szabályozásában is [4].

A könnyű és a közepes méretű dinein láncok

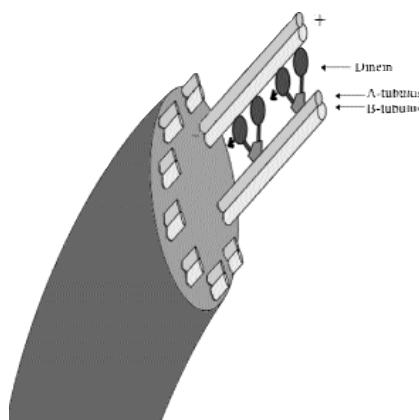
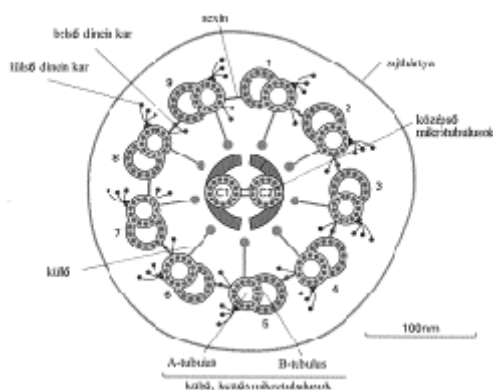
A Dnl-ok mellett a dineinek további alegységeket is tartalmaznak. Az alegységek mérete 8 és 150 kD között változik. Az alegységeket méretük alapján könnyű és közepes méretű láncoknak nevezik [3]. Az alegységek összetételét illetően nagyok a különbségek nemcsak a csilló és a citoplazmatikus dineinek, de még a különféle csilló dineinek között is. Elsősorban az alegységek szerteágazó jellege miatt jószerivel ismeretlen a könnyű és a közepes méretű láncok funkciója a dineinek életében. Ugyanakkor az aminosav-szekvenciák alapján jól elkülöníthető csoportokat lehet felismerni. A csilló és a citoplazmatikus dineinek közepes méretű láncainak C-terminális része erősen konzervált, és jellegzetes WD ismétlődéseket tartalmaz [5]. A WD ismétlődésekről azt gondolják, hogy a fehérje-fehérje kölcsönhatásban akkor játszanak szerepet, amikor a több alegységből álló dinein komplexek összeállnak. Elfogadott, hogy a WD ismétlődéseket tartalmazó fehérjék globuláris szerkezetet tudnak felvenni, miközben propellerre jellemző struktúrákat képeznek [6, 7]. Egy 78 kD-os közepes méretű láncnak az a része, amely egy 69 kD-os méretű partnerrel történő kapcsolódáshoz szük-

séges, két WD ismétlődést tartalmaz [8]. A többi WD ismétlődés a további dinein alegységekkel történő kapcsolódáshoz lehet szükséges. A dineinek közepes méretű láncainak N-terminális felőli része nagyon változatos, és valószínűleg a teherrel való kapcsolódás a funkciójuk.

A számos dinein könnyű lánc funkciója is csaknem teljesen ismeretlen. A miozin könnyű láncok funkciója alapján azt gondolhatjuk, hogy a könnyű láncok szabályozzák a dineinek aktivitását. A feltételezést alátámasztja az a megfigyelés, hogy a dinein könnyű láncok foszforiláltságának mértéke arányban áll a fehérje komplex mozgékonyásával. Mivel egy 8 kD-os csilló dinein könnyű láncsal homológ fehérjét csilló és flagellum nélküli élőlényekben is azonosítottak, arra lehet következtetni, hogy a 8 kD-os könnyű lánc nemcsak a csilló dineinnek, hanem a citoplazmatikus dineinnek is alkotója [9].

Hogyan keltenek mozgást a dineinek?

A Dnl-ok szerkezete meglehetősen hasonló a csilló és a citoplazmatikus dineinekben: egy globuláris feji részből és egy karcsú nyélből állnak (1. ábra, C). Valószínű, hogy a nyél kapcsolódik a szállítandó „teherrel”. A csilló dineinek esetében a „teher” nem más, mint a csillók és a flagellumok külső kettős mikrotubulusának az egyike (3. ábra). A citoplazmatikus dineinek esetében a teher lehet valamely membránnal határolt sejt szervecske, mint pl. a Golgi készülék hólyagocskái vagy a neurotranszmitter molekulákkal töltött hólyagocskák.



3. ábra A: Egy csilló keresztmetszete a jellegzetes axonómával. Az axonéma közepén egy pár mikrotubulus, a kerületén pedig kilenc kilenc mikrotubulus kettős található. **B:** Két pár mikrotubulus kettős a hozzájuk kapcsolódó csilló dineinmolekulákkal. A dineinek az egyik pár A tubulusához rögzítettek, miközben a szomszédos mikrotubulus kettős B tubulusa mentén haladnak. A dineinek elmozdulása vezet az axonéma, és végeredményben a csilló és a flagellum elhajlásához.

A csilló dineinek funkciója

Az eukariota csillók és flagellumok szerkezete és funkciója lényegében azonos (3. ábra). A belsejüket egy axonémának nevezett mikrotubulus nyaláb alkotja. Egy axonémában a középső két mikrotubulust – többnyire – kilenc mikrotubulus kettős veszi körül. Az axonéma elhajlása – ami a csillók és flagellumok mozgásának az alapja – olyan erőkre vezethető vissza, amelyek a külső mikrotubulus párokat egymáshoz képest elcsúsztatják. Az elcsúszás az axonéma teljes hossza mentén történik, gyűrődésmentesen. Az elcsúszáshoz szükséges erőt a csilló dineinek külső és belső karjai keltik. Az A tubulushoz kapcsolódó dinein karok a szomszédos tubuluspár B tubulusa mentén haladnak annak alapja, a mínusz (-) vég felé (3. ábra). Az erő keltéséhez ATP-re van szükség. Az elmozdulást a dinein kar és a B tubulus között ismétlődően kialakuló és megszűnő kötődések biztosítják, miközben a dinein mintegy „araszol” a B tubulus mentén. Valójában a Dnl globuláris feji része átmenetileg kötődik a szomszédos B tubulushoz, miközben a nyele folyamatosan az A tubulushoz kapcsolódik a könnyű és a közepes méretű dinein láncokkal. A könnyű és a közepes méretű láncok szabályozhatják a dineinmolekulák aktivitását. A külső dinein kar fajtól függően egy olyan két- vagy háromfejű struktúra, amelyet α , β és γ Dnl-ok alkotnak, valamint két vagy több közepes méretű és sok könnyű lánc [1]. A belső dinein karok még annál is komplikáltabbak, mint azt korábban gondolták. A *Chlamydomonas* flagellumaiból nyolc különböző Dnl különíthető el biokémiai módszerekkel. A Dnl-ok a különféle közepes méretű és a könnyű láncokkal kapcsolódva hét különféle molekuláris komplexet képeznek [5]. Minthogy a dinein karok a mikrotubulusokon csak a negatív irányba haladnak, és minthogy mindegyik kettős tubulus cső a két szomszédja közül csak az egyik mentén csúszik el, az axonéma egyik felén bekövetkező előmozdulás azt eredményezi, hogy az axonéma az egyik irányba elhajlik. Az axonéma másik oldalán történő mikrotubulus elcsúszások pedig azt eredményezik, hogy az axonéma a másik irányba hajlik el. A dinein karok aktivitásának tér- és időbeli koordinálásával szabályozható az axonéma hajlásának iránya a csilló vagy a flagellum tövétől a csúcsáig, végeredményben tehát a csillók és a flagellumok jellegzetes mozgása.

A *Chlamydomonas* mozgásképtelen flagellumú mutánsainak vizsgálata alapján derült ki, hogy a dineinek belső és külső karjai különböző szerepet játszanak a flagellumok hullámszerű mozgásában és a mozgás frekvenciájában. Például a dinein belső kar egyik formájának hiánya a hullámszerű flagellum mozgás alakját befolyásolja. Az összes dinein belső kar hiányában a flagellumok mozgásképtelenek. A külső karok hiányában a flagellum mozgás hullámformája nem változik, csupán a csapások frekvenciája csökken, jelezve, hogy külső karok csak a külső tubulus kettős csövek elcsúszását segítik, és nem a flagellumok meghajlását. A belső dinein karok viszont a csúszáshoz szükséges erőt generálják, amely meghajláshoz vezet, jelezve, hogy a belső dinein karok a csillók és flagellumok hajlásához szükségesek. További mutánsok vizsgálata alapján arra derült fény, hogy a külső mikrotubulusok elcsúszásához nincs szükség sem a két központi mikrotubulusra, sem pedig a sugárirányú küllőkre. A középső mikrotubulusoknak és a küllőknek inkább a dineinek aktivitásának szabályozásában lehet szerepe azáltal, hogy a flagellumok mozgása során különböző dinein csoportokat aktiválnak vagy inaktívnak. A belső két mikrotubulus és a küllők dineint szabályozó funkciójára a papucsállatka (*Paramecium*) működő csillóinak elektronmikroszkópos vizsgálata alapján derült fény. A csillók különböző részeinek vizsgálata megmutatta, hogy a két központi mikrotubulus pörög az axonémán belül. Valószínű, hogy a központi mikrotubulusok orientációja úgy határozza meg a görbülés irányát, hogy forgása közben különböző dinein karokat aktivál [1, 5].

A citoplazmatikus dineinek

Különös, hogy amíg a csillók és a flagellumok mozgásához meglehetősen sokféle dineinre van szükség, addig a sejten belüli anyagszállítást kevés citoplazmatikus dinein típus végzi. A nagy felbontóképességű mikroszkópokkal folytatott vizsgálatok mutatták meg, hogy ugyanazok a dineinek, amelyek az interfázisban a hólyagocskákkal kapcsolódtak, a mitózis folyamán az orsófonalokhoz és a kinetochorokhoz kötődnek. Amíg az interfázisban a citoplazmatikus dineinek sejtservecskéket szállítanak a mikrotubulusok mentén, a metafázisban ugyanazok a dineinmolekulák a mitotikus orsórendszer kialakításában és orientálásában,

valamint a kromoszómák szegregációjában játszanak szerepet. Úgy tűnik, hogy a különböző dinein funkciókat a különböző dinein alegységek szabályozzák. A mitózis során kináz enzimek foszforilálják a dinein könnyű és a közepes méretű láncait. A foszforiláció eredményeként a dineinek leválnak a membránokról, és következképpen csökken a sejtservecske transzport hatékonysága. A Dnl foszforilációja pedig az interfázisban szabályozza a dinein aktivitást. A helyzetet komplikálja, hogy a dinein foszforiláció következménye a sejtek típusától is függ [11].

A citoplazmatikus dineinek funkciója

A citoplazmatikus dineinek fontos szerepet töltenek be az axonális transzportban, amely során mint terhet, elhasználandó membránalkotókat szállítanak az axon végekből az idegsejtek testébe, ahol a membrántörmelékek a lizoszómákban lebomlanak. A citoplazmatikus dineinek vesznek részt a Golgi vezikulumoknak a MT szervező központhoz való elszállításában, ahol a mitózis végén összeáll az új Golgi készülék. A citoplazmatikus dineinek szállítják az endoplazmatikus retikulum membránokat is. A halak, a kétélűek és a hüllők sok fajának pigmentsejtjeiben a citoplazmatikus dineinek szállítják a membránnal burkolt pigment rögöcskéket a sejtek központja felé, miközben a sejtek és az élőlények is kifakulnak. A citoplazmatikus dineineknek fontos szerepe van a szekrécióban is: ők szállítják az epitel sejtek apikális vége közelébe azokat a Golgi készülékből származó vezikulumokat, amelyek tartalma majdan a sejten kívülre ürül. Érdekes, hogy ugyanazokhoz a vezikulumokhoz miozin motorfehérjék is kapcsolódnak, amelyek a vezikulumokat az aktin mikrofilamentumokban gazdag kortikális citoplazmán át szállítják [1].

Dineinek a mitózisban

A mitózis meglehetősen pontosan összehangolt folyamat. A pontosság alapja a folyamat redundáns jellege és az egymással átfedő mechanizmusok. A kromoszómáknak a mitózis során történő szegregációját olyan időben és térben összehangolt események biztosítják, amelyeknek része a centroszómák elkülönülése a profázisban valamint a kromoszómák szegregációja az anafázisban (4. ábra). A kromoszómák a kinetochor mikrotubulusokkal

történő kapcsolódásukat követően a sejt egyenlítői síkjába rendeződnek a mitózis prometáfázisában, majd az anafázisban a centroszómák felé vándorolnak. Bizonyos, hogy a kromoszómák szegregációjában a motormolekuláknak fontos szerepük van.

1. A centroszóma szegregáció

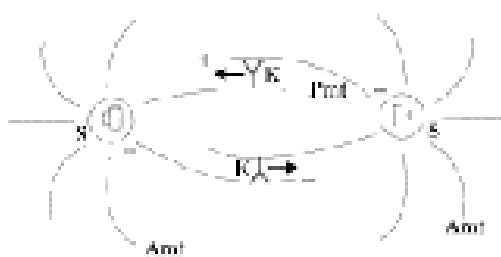
A citoplazmatikus dineinek alapvető szerepet töltenek be a profázis folyamán a centroszómák (sejtközpontok) szeparációjában. Miután HeLa sejtbe anti-citoplazmatikus dinein ellenanyagot injektáltak a profázis kezdetén, a centroszóma replikálódott ugyan, de az utód centroszómák nem szegregálódtak, és ún. monopoláris orsót képeztek. A metafázisban levő sejtekben az ellenanyagoknak nem volt hatása sem az orsórendszerre, sem a kromoszómák viselkedésére. Úgy tűnik tehát, hogy a dineineknek nincs szerepük a már elkülönült centroszómák állapotának megőrzésében, és az az orsórendszer, amely kinetochor mikrotubulus kötegekből, az egyenlítői síkban átfedő poláris mikrotubulusokból valamint az asztrális mikrotubulusokból áll, a dineinek nélkül is stabil [12].

A mínusz (-) irányú molekuláris motorok több mechanizmus szerint biztosíthatják a centroszómák elkülönülését (4. ábra). Az egyik modell szerint a centroszómák elkülönülése emlékeztet az axonémákban lejátszódó eseményekre, ahol a csilló dineinek a párhuzamosan futó kettős mikrotubulusokat csúsztatják el (4. ábra). Ha egy dineinmolekula időlegesen az egyik mikrotubulus adott pontjához rögzített, és közben egy másik centroszómából eredő másik mikrotubuluson halad, a kezdetben szorosan egymás mellett levő leány centroszómák eltávolodnak egymástól. A dinein vándorlása nyomán a mikrotubulusok a centroszómák közötti térbe rendeződnek, és végeredményben kialakul az orsórendszer. Más motormolekulák is kapcsolódhatnak a mikrotubulusokhoz, stabilizálva őket, és egyre jobban szeparálva a centroszómákat. Egy másik modell azt feltételezi, hogy a centroszómákra egy, az asztrális mikrotubulusokon át érkező, a dineinektől származó húzóerő hat. Az asztrális húzóerő modellt támasztja alá az a megfigyelés, hogy az aszterek egymástól függetlenül is mozoghatnak. A mikrotubulus aszterek mozgása bekövetkezhet, ha őket olyan mínusz (-) vég irányú molekuláris motorok húzzák, amelyek a sejthártyához, a sejt kérgi részéhez vagy valamilyen cito-

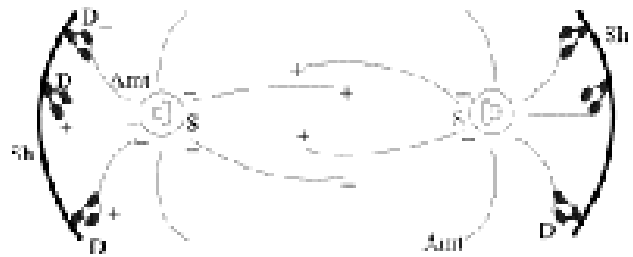
(A) A sejtközponatok elrendeződése és az osztódási orsó kialakulása



(B) A sejtközponatok elkülönülése

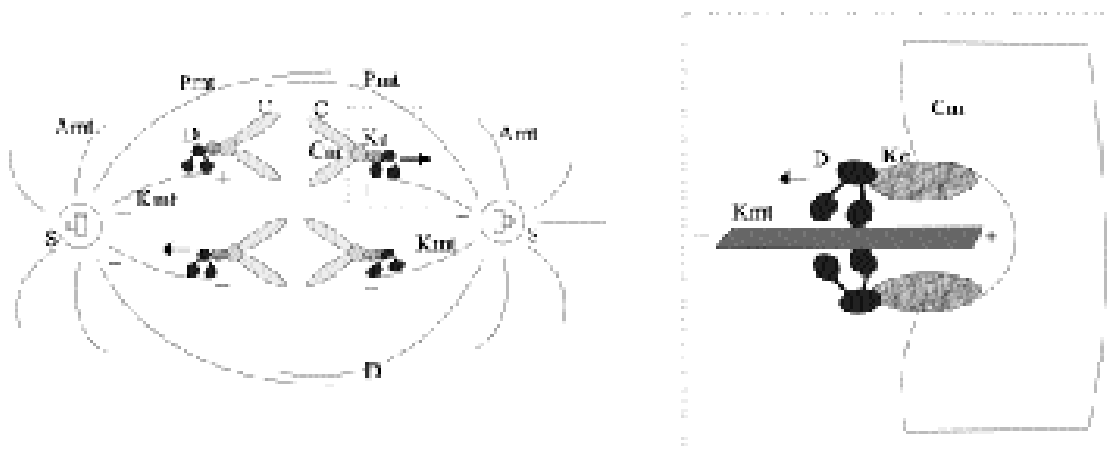


Kinezin molekulák az egymással ítéződő poláris mikrotubulusok közél kötődve szétolják a sejtközponatokat



A sejtábrnyához kötődő dinein molekulák az azonosú mikrotubulusokan keresztül húzzák a sejtközponatokat

(C) Dinein molekulák húzzák a kromoszómákat az osztódó sejt két pólusa felé



- | | |
|--------------------------|-----------------------------|
| Am: azonosú mikrotubulus | Ke: kinetochor |
| C: kromoszóma | Km: kinetochor mikrotubulus |
| Om: centromer | Pmt: poláris mikrotubulus |
| D: dinein | S: sejtközponat |
| K: kinezin | Sh: sejtábrny |

4. ábra A dineinek szerepe a mitózisban. (Részletesen lásd a szövegben.)

plazmatikus szerkezethez vannak kihorgonyozva. Genetikai jellegű bizonyítékok is léteznek, amelyek azt mutatják, hogy a citoplazmatikus dineinek szerepet játszanak a sejt központok szegregációjában: a muslicában elmarad a sejt központok aszimmetrikus szegregációja, valamint az azt követő aszimmetrikus sejtosztódás és petesejt differenciálódás azokban a sejtekben, amelyek a Dnl funkcióvesztéses mutáns alléljára nézve homozigóták [13].

2. Kromoszóma szegregáció

Bár már kimutatták, hogy a citoplazmatikus dineinek az emlősök kromoszómaínak kinetochorjához kapcsolódnak, nem világos, hogy mi a citoplazmatikus dineinek szerepe a kromoszómák centroszómák felé történő vándorlásában. Különös, hogy a meta- és az anafázisos sejtekbe injektált anti-dinein ellenanyag nem akadályozta meg a kromoszómák vándorlását, arra utalva, hogy a dineinek nem játszanak szerepet a kromoszómák szegregációjában és/vagy vándorlásában. Meglehet, hogy a felfüggesztett dinein funkciót más enzimek veszik át. Valószínűbb azonban, hogy az alkalmazott anti-dinein ellenanyag nem tudott hozzáférni a dinein molekulákhoz a már összeszerelődött osztódási orsóban.



5. ábra Egy gúnander (XX/X0, nőstény/hím) mozaik muslica, amely a citoplazmatikus dinein nehéz láncában bekövetkezett domináns mutáció eredményeként képződött. A gúnander bal oldalát nőstény, a jobb oldalát hím sejtek alkotják. A hím jelleg a hímek első lábára jellemző szex-fésűről, valamint az X kromoszómához kapcsolt recesszív tulajdonságokról (fehér szem, kis szárny) ismerhető fel.

A laboratóriumunkban folytatott genetikai vizsgálatok bizonyították, hogy a citoplazmatikus dineinek szerepet játszanak a kromoszóma szeg-

regációjában: a muslica citoplazmatikus Dnl-génben indukált domináns negatív mutáció (Dnl^D) kromoszómavesztést és nondisjunkciót okoz, valamint domináns apai hatása is van. (A domináns negatív mutációk olyan „toxikus” génterméket kódolnak, amelyek funkciója eltér a normálistól, azzal interferál.) A domináns apai hatás azt jelenti, hogy a spermatogenezis folyamán a Dnl^D mutációval találkozó bármely kromoszóma részt vehet a megtermékenyülésben, de gyakorta elvesz az embriókban. A kromoszómavesztés nyomán pl. XX/X0 nőstény/hím mozaikok képződnek, amelyeket gúnandereknek neveznek (5. ábra). A kromoszómavesztés független attól, hogy az embrió hordozza-e a Dnl^D mutációt vagy sem. A Dnl^D mutáció mo-lekuláris természete még ismeretlen.

A dinaktin

Bár a dineinekről alkotott képünk korántsem teljes még, további szereplők is felbukkantak. Ezek egyike a dinaktin. A dinaktin egy 20S-sel ülededő komplex, amelyet a következő molekulaféleségek alkotnak: két 150-160 kD tömegű polipeptid, egy 45 kD-os, az aktinnal rokonságot mutató fehérje (a centraktin), a jól ismert aktin, egy aktint védő, valamint további 24, 27, 50 és 62 kD tömegű fehérjék. Annak ellenére, hogy a dinaktinra nincs szükség ahhoz, hogy a dinein *in vitro* lehetővé tegye a mikrotubulusok elmozdulását, a dinaktin serkenti a citoplazmatikus dineinek funkcióját a vezikulumok szállításában *in vitro* [14]. Továbbá, a dinaktin egyik 150 kD-os komponensében olyan evolúciósan megőrzött motívumok találhatók, mint abban az endoszóma kapcsolófehérjében, amelyről tudott, hogy a motor-teher komplexet a mikrotubulus hálózathoz köti. Feltételezhető, hogy a dinaktin komplex a teher kapcsolódás szintjén szabályozza a citoplazmatikus dineinek funkcióját [15].

A jelen összefoglaló a dineineknek, a motorfehérjék egyik típusának mostanában megismert funkcióit tekinti át. A szerencsésen ötvözött genetikai, molekuláris és sejtbiológiai kutatások máris fontos ismereteket szolgáltatottak a motorfehérjék szerkezetéről és funkciójáról, és azt az ígéretet hordozzák, hogy meg fogjuk érteni mind a csillók és a flagellumok „működését”, mind pedig a sejten belüli anyagszállítás mechanizmusát.

Irodalom

- [1] Lodish, H., Baltimore, D., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaria and P., Darnell, J. (1995) In: Molecular Cell Biology, 3rd edition, Scientific American Books, Inc., New York, pp. 1070-1106.
- [2] Gibbons, I.R. (1995) Dynein family of motor proteins: present status and future questions. *Cell Motil. Cytoskeleton*, **32**: 136-144.
- [3] Hays, T.S., Porter, M.E., McGrail, M., Grissom, P., Gosch, P., Fuller, M.T., McIntosh, J.R. (1994) A cytoplasmic dynein motor in *Drosophila*: identification and localisation during embryogenesis. *J. Cell Sci.*, **107**: 1557-1569.
- [4] Li, M., McGrail, M., Serr, M., Hays, T.S. (1994) *Drosophila* cytoplasmic dynein, a microtubule motor that is asymmetrically localized in the oocyte. *J. Cell Biol.*, **126**: 1475-1494.
- [5] Porter, M.E. (1996) Axonemal dyneins: assembly, organization, and regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **8**: 10-17.
- [6] Garcia-Higuera, I., Fenoglio, J., Li, Y., Lewis, C., Panchenko, M.P., Reiner, O., Smith, T.F., Neer, E.J. (1996) Folding of proteins with WD-repeats: comparison of six members of the WD-repeat superfamily to the G protein beta subunit. *Biochemistry*, **35**: 13985-13994.
- [7] Garcia-Higuera, I., Gaitatzes, C., Smith, T.F., Neer, E.J. (1998) Folding a WD-repeat propeller. Role of highly conserved aspartic acid residues in the G protein beta subunit and Sec13. *J. Biol. Chem.*, **273**: 9041-9049.
- [8] King, S.M., Patel-King, R.S., Wilkerson, C.G., Witman, G.B. (1995) The 78000 Mr intermediate chain of *Chlamydomonas* outer arm dynein is a microtubule-binding protein. *J. Cell Biol.*, **131**: 399-409.
- [9] King, S.M., Patel-King, R.S. (1995) The Mr=8000 and 11000 outer arm dynein light chains from *Chlamydomonas* flagella have cytoplasmic homologues. *J. Biol. Chem.*, **270**: 11445-11452.
- [10] Sakakibara, H., Takada, S., King, S.M., Witman, G.B., Kamiya, R. (1993) A *Chlamydomonas* outer arm dynein mutant with a truncated B heavy chain. *J. Cell Biol.*, **122**: 653-651.
- [11] Nicklas, J., Allan, V.J., Vale R.D. (1996) Cell cycle regulation of dynein association with membranes modulates microtubule-based organelle transport. *J. Cell Biol.*, **133**: 585-593.
- [12] Vaisberg, E.A., Koonce, M.P., McIntosh, J.R. (1993) Cytoplasmic dynein plays a role in mammalian mitotic spindle formation. *J. Cell Biol.*, **123**: 849-858.
- [13] McGrail, M., Hays, T.S. (1997) The microtubule motor cytoplasmic dynein is required for spindle orientation during germline cell divisions and oocyte differentiation in *Drosophila*. *Development*, **124**: 2409-2419.
- [14] McGrail, M., Gepner, J., Silvanovich, A., Ludmann, S., Serr, M., Hays, T.S. (1995) Regulation of cytoplasmic dynein function in vivo by the *Drosophila* Glued complex. *J. Cell Biol.*, **131**: 411-425.
- [15] Pierre, P., Scheel, J., Rickard, J.E., Kreis, T.E. (1992) Clip-170 link endocytic vesicles to microtubules. *Cell*, **70**: 887-900.

BIO-SCIENCE

Ezúton értesítjük kedves ügyfeleinket, hogy 1998. január 1-jétől a **LABSYSTEMS** és a **HYBAID** termékek mellett a német **reber plusz** cég műanyag termékeit is forgalmazzuk. Így minden műanyag eszközt beszerezhet egy helyen.

Labsystems termékek:

Két funkció egy készülékben! "Fluoroskan FL", Fluoriméter és Lumiméter egy műszerben

Pipettetták (2-20, 10-100, 20-200, 100-1000ul tartományban) pipettahegyek

ELISA leolvasók és mosók
inkubátorok, rázkó és adagolók
fluoriméterek, lumiméterek, neleonméterek

HYBAID termékek:

PCR készülék „PCR Sprint” 650 000 Ft + ÁFA
PCR, In-Situ PCR készülékek
hidridizációs kályhák
elektroforetikus készülékek
PCR csövek, DNS és RNS szeparáló, stb. kitek

reber plusz
műanyag termékek:
Reagens-centrifuga- és PCRcsövek,
Vérveteli csövek, petricsészék, Teraszki tálcák, szintilációs mérőedények,
Kivettők, oltókezesítő stb.

BIO-SCIENCE Kft 1119 Budapest Andorú. 47-48.
tel.: 463-5077 fax: 463-5261

BIO-SCIENCE

Labsystems **iEMS Reader MF**



Kinetikai mérésekhez
Új generációs ELISA leolvasó

- computer vagy önálló vezérlés
- kiváló hőmérséklet-szabályzás (+ 40 °C-ig)
- beépített, szabályozható sebességű orbitális rázó (400-1400 rpm)
- linearitás 4 abszorbanciáig
- CV 0,2 % vagy 0,002 A
- 8 filter (340-690 nm)
- dispenser opció (20-390 ul)

BIO-SCIENCE Kft 1119 Budapest Andorú. 47-48.
tel.: 463-5077 fax: 463-5261

Környezetszennyező veszélyes hulladékok biológiai lebontása

Perei Katalin, Bihari Zoltán, Kesserű Péter, Polyák Béla

Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Alapítvány,
Szegedi Biotechnológiai Intézet, 6726 Szeged,
Derkovits fasor 2.

Bodrossy Levente, Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél

MTA Szegedi Biológiai Központ, Biofizikai Intézet,
József Attila Tudományegyetem, Biotechnológiai
Tanszék 6726 Szeged, Temesvári krt. 62.

A vegyipar rohamos fejlődésével növekedett az ipari üzemek által kibocsátott szintetikus vegyületek jelenléte a környezetben. Ezen szennyezőanyagok vagy bomlástermékeik gyakran erősen toxikusak az élő szervezetekre. A környezet terhelése sok esetben kritikus szintet ért el. Különösen nagy gondot jelentenek a hagyományos körülmények között nem lebomló vagy nehezen bomló szerves vegyületek. Ezek eltávolítására, semlegesítésére számos mechanikai, fizikai, kémiai, biológiai eljárást dolgoztak ki. A kémiai, fizikai folyamatok olyan hátrányokat mutatnak (pl. költségesek, nem bontják le az anyagot csupán hordozóhoz kötik azt, újabb környezeti szennyezés forrásai stb.), amelyek előnytelené tehetik ezek felhasználását, ezért a szerves vegyületek lebontására egyre gyakrabban alkalmaznak biológiai módszereket.

Baktériumok közötti hidrogéntranszfer biotechnológiai kiaknázása

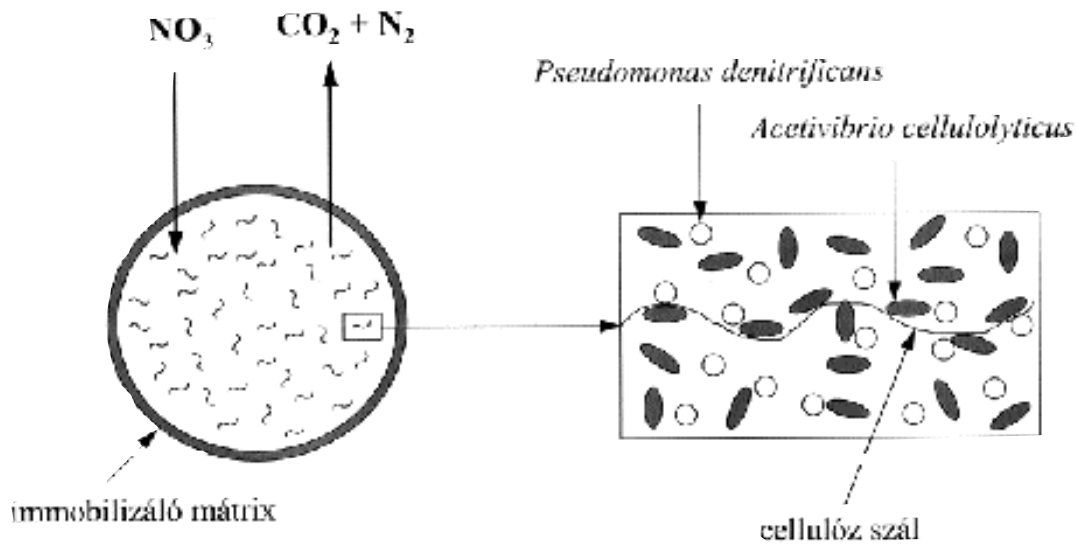
A környezeti szennyeződések általában magukat a szennyező anyagokat és azok – esetenként ártalmas – bomlástermékeit tartalmazzák. Amennyiben ezek az anyagok egy élő szervezet számára feldolgozhatók (pl. szén- és/vagy energiaforrásként szolgálnak), akkor a természetben megjelenő hulladékok természetes mikrobiológiai ökoszisztéma kialakulásához vezethetnek. Az egyedi fajok azonban általában nem képesek túlélni a toxikus környezetben. Ezt felismerve a bioremediációs eljárásokban az egymással szimbiotikusan együtt élő mikrobák irányított keverékét alkalmazzák. Ma a remediációs

mikrobiológiai eljárások elterjedésének egyik jelentős akadálya az, hogy keveset tudunk a mikroorganizmusok közötti kooperatív hatásokról és kölcsönös függőségi kapcsolatokról. Ez az ismerethiány a rendszer jellemzőinek szegényes megértését, és így rosszabb minőségű, sokszor kiszámíthatatlan teljesítményét eredményezi. A probléma kiküszöbölésére a fejlesztő laboratóriumok többsége ún. irányított kevert kultúrákat alkalmaz, melyekben a különböző sejtípusok tiszta kultúráit keverik össze a lebontó hatékonyság növelése érdekében. A mikrobiális kölcsönhatásokat különféle immobilizációs technikák alkalmazásával segíthetjük elő, melyek közös jellemzője, hogy magas biomassza koncentrációt biztosítanak kis térbe zárva. Ez növeli a különböző fajok közötti hatások érvényesülését, valamint megakadályozza a sejtek távozását a reakciótérből [1,2].

A fajok közötti együttműködés jelentőségének egy szemléletes példája a bakteriális hidrogén anyagcsere alkalmazása környezeti biotechnológiai eljárásokban. A baktériumok egy csoportja hidrogént termel anyagcsere melléktermékeként, ezt a társulás hidrogén felhasználó egyedei felveszik egy hatékony, fajok közötti hidrogéntranszfer segítségével. A jelenség gyakorlati fontosságát az ivó- és szennyvizek nitrátmentesítése esetében bizonyítottuk.

Ivó- és szennyvizek nitrátmentesítése

A nitrátszennyezett vizek fokozatosan terjednek a világban, különösen az iparosodott országokban. Ott, ahol a súlyos közegészségügyi problémákat, a lakosság egészségi állapotát veszélyeztető nitrátot már komolyan veszik, jelenleg fizikai-kémiai eljárást alkalmaznak a nitrátionok eltávolítására. Ehhez ioncserélő gyantát használnak, mely a nitrátionokat a kezelt vízből hatékonyan megkötö, de a gyantát folyamatosan regenerálni kell az újrafelhasználás érdekében. Az ioncserélő gyantával koncentrált nitrát – esetleg kerülő úton – visszakerül a természetbe és tovább szennyezi az ivóvízkészleteket. Tanulmányoztuk a biológiai nitrátmentesítés lehetőségét az ivó- és szennyvizek tisztítása szempontjából. Az elterjedőben lévő, de még kezdetlegesen kidolgozott biotechnológiai megoldásban egy bio-



1. ábra Cellulózbontáson alapuló, anaerob, kevert kultúrák denitrifikáló eljárás elvi sémája

szűrő ágyba immobilizált denitrifikáló mikroorganizmus kultúrát alkalmaznak, mely a nitrátot nitrogéngázzá alakítja. Ezt a biológiai szűrőt a baktérium felszaporodás megakadályozására mechanikai szűrővel veszik körül. A heterotróf denitrifikáló szervezetek szerves energiaforrást igényelnek, így a kezelendő ivóvízbe szerves anyagot kell juttatni. Bár ez működőképes eljárás a szennyezés eltávolítására, a vízügyi szakemberek mégsem fogadták lelkesen, mert mikrobiális szennyeződés és a baktériumok táplálékául szolgáló szerves anyag így bejuthat a tisztított vízbe.

A problémák kiküszöbölésére olyan rendszert fejlesztettünk ki, mely két olyan új tulajdonsággal rendelkezik, amelyeket eddig még nem alkalmaztak denitrifikáló rendszerekben: egyrészt a fajok közötti hidrogéntranszfer előnyét, másrészt új immobilizálási eljárásunkat használtuk fel. A rendszer elvi működését mutatja az 1. ábra.

A denitrifikáló mikroorganizmusok nitrát redukciójához hidrogén szükséges. Ezt egy hidrogéntermelő faj és az aktív hidrogéntranszfer segítségével biztosítottuk. A hidrogéntermelő mikroorganizmus energiaforrását szerves anyagból (pl. ipari szennyvizek, cukrok, cellulóz) szerzi. Az immobilizálás következtében a térbeli közelség miatt a termelt hidrogén hatékonyan adódik át a denitrifikáló baktériumnak [3].

A részt vevő mikroorganizmusok immobilizálása egy nagy fizikai ellenállású gélágyba jobb teljesítményt biztosít, minthogy jelentősen nő a baktéri-

umpopuláció sűrűsége, viszonylag nagy átfolyási sebesség mellett sem mosódnak ki a sejtek a rendszerből. Speciális immobilizációs módszerünk alkalmazásával a baktériumokat tartalmazó hordozón kívül lényegében steril fermentációs körülményeket lehet fenntartani, miközben a hordozó belsejében a mikrobiális ökológia szigorú ellenőrzése/szabályozása lehetővé válik.

Az eljárás legegyszerűbb formájában egy iható vizet előállító ioncserélő oszlopot tartalmaz, míg egy másik ioncserélő oszlop biológiai denitrifikációs rendszerben regenerálódik. Az ioncserélő gyanta regenerálásakor magas nitrátkoncentrációjú sós oldat keletkezik. A megfelelően kezelt baktériumpopuláció képes a nitrátionokat nitrogéngázzá alakítani. Laboratóriumi kísérleteinkben a tömény nitrátot tartalmazó sós víz nitráttartalmának 90 százaléka rutinszerűen ártalmatlanítható.

A nitrátoldat biológiai redukcióját immobilizált mikroorganizmusokat tartalmazó bioreaktorban végezzük el. Laboratóriumunkban egy zárt rendszerben, folyamatos cirkulálással működő kísérleti berendezést is kifejlesztettünk. A sós mosófolyadék újracirkuláltatásával tökéletesítettük a rendszert.

A szennyvíz kezelésben a rendszer hidrogéntermelő segítő egyedei pl. az élelmiszeripar hígított szennyvizének szerves anyagát (cukrokat, fehérjéket) hasznosítják. Denitrifikáló képességgel több baktérium is rendelkezik, így pl. a *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacillus* családok bizonyos fajai. Laboratóriumunkban egy ilyen denitrifikáló rend-

szer 1–2 g nitrát/l oldatot tudott átalakítani 10 mg nitrát/(g gyöngy)/óra konverziós sebességgel, s a rendszer hónapokig üzembiztosan működött. A nitrátredukció során kísérő szennyeződésként megjelenhet nitrit, azonban az effluensben nitritionokat folyamatos működés után sem detektáltunk [3].

Xenobiotikumok biodegradációja

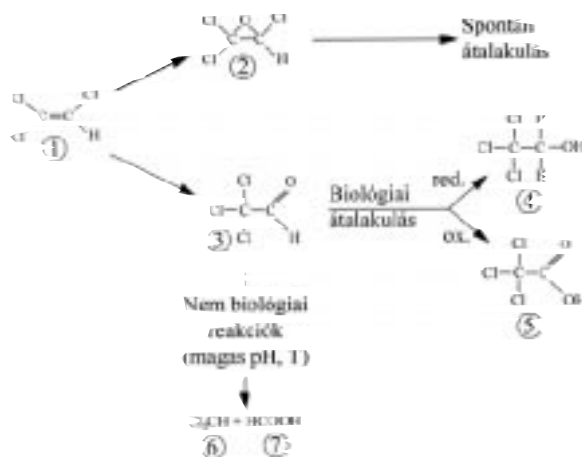
Labórátóriumunk másik profilja a természetben előforduló és ipari üzemekben termelt veszélyes vegyszerek lebontása természetes izolátumokkal. Évtizedek óta gondot okoz a szerves vegyületek felhalmozódása a talajban, talajvízben. Gyakran olyan vegyületek is előfordulnak, melyek noha igen alacsony koncentrációban vannak jelen, így is komolyan egészségkárosítók. Ezért nem elégséges csupán minimalizálni a szennyező komponenseket a természetben, hanem tökéletes lebontásuk szükséges. A mikroorganizmusok csak nehezen, lassan tudják bontani a számukra idegen, nem természetes eredetű vegyületeket. Nehéz feladat megtalálni azokat a rendkívül jó adaptációs képességgel bíró fajokat, melyek képesek a kedvezőtlen környezetben túlélni, és e vegyületeket felhasználni fennmaradásukhoz.

Számos konkrét lebontási folyamatot sikerült már kifejlesztenünk, pl. halogénezett vegyületek, szulfonált aromás vegyületek, valamint jelenleg is újabb és újabb anyagok, pl. inszekticidek, PET (polietilén-tereftalát) semlegesítésére dolgozunk ki hatékony és könnyen kezelhető eljárásokat.

Klórozott vegyületek semlegesítése metanotróf izolátummal

Ismeretes, hogy a metanotróf mikroorganizmusok számos szerves vegyület aerob lebontásában vesznek részt, s biokonverziós képességeiket a környezetvédelmi biotechnológiával foglalkozó számos laboratóriumban világszerte igyekeznek kihasználni [4]. A metanotróf mikroorganizmusok képesek a metánt négy lépésben oxidálni, miközben metanol, formaldehid és formiát intermedierek képződnek: végső soron a metánt széndioxidra és vízre bontják. A reakciósort indító kulcsfontosságú metalloenzim a metán-monooxygenáz, mely a metán metanollá történő oxidációját katalizálja. A metanotrófok metán-monooxygenáz enzime oxigént képes beépíteni a metánon kívül számos más vegyületbe is, pl. alifás telített és telítetlen, aliciklikus, aromás illetve halogénezett szénhidrogénekbe.

A klórozott oldószerekkel okozott környezeti szennyeződések egyik példája a triklór-etilén (TCE), mely komoly egészségkárosító, rákkeltő anyag. Széles körű alkalmazása, a gyakorta gondatlan kezelés és tárolás, valamint kiemelkedő kémiai stabilitása miatt az egyik leggyakrabban kimutatható szennyező a talajban és talajvizekben. A metanotrófok metán-monooxygenáz enzime képes ennek a rendkívül stabil szennyező anyagnak az oxidációjára [5]. A reakció terméke a TCE-t meg sem közelítő stabilitással bír, így spontán módon továbbalakul, lebomlik. A lebontási mechanizmus



2. ábra Triklóretilén (TCE) biodegradációja metanotróf baktériumokkal 1: triklóretilén; 2: TCE-epoxid; 3: 2,2,2-triklóracetaldehid (klorál); 4: 2,2,2-triklóretanol; 5: 2,2,2-triklórecetsav; 6: kloroform; 7: hangyasav; T: hőmérséklet.

lépéseit a 2. ábrán foglaljuk össze. Az elmúlt évtized intenzív kutatásai arra utalnak, hogy a metanotróf mikroorganizmusok a ma ismert leghatékonyabb rendszert jelentik a TCE és a vele rokon egyéb halogénezett szénhidrogének hatástalanítására.

A metanotróf szervezetek biokonverziós tulajdonságát kihasználva, egy saját, Algyő környéki meleg vizes tárolóból gyűjtött metanotróf izolátumunkkal kísérleteket végeztünk egyéb klórozott vegyületek semlegesítésére. A balatonfűzfői Nitrokémia Rt. megbízásából növényvédő szer gyártáshoz használt klórozott aromás vegyületek lebontásával sikeresen demonstráltuk a biológiai rendszer hatását. Metanotróf izolátumunk szabadsejtes körülmények között rázatott kultúrában a tömény szennyvízből 60 °C hőmérsékleten egyhetes ellenőrzés után 99 százalékban elbontotta a toxikus klórozott vegyületet. Sajnos az eredményes kezdeti kísérletek után a konkrét biotechnológiai alkalmazásra irányuló munkát finanszírozás és megrendelői érdeklődés hiányában félbe kellett szakítanunk. A folyamatot nemzetközi kooperációban kutatjuk tovább.

A szulfanilsav biológiai lebontása

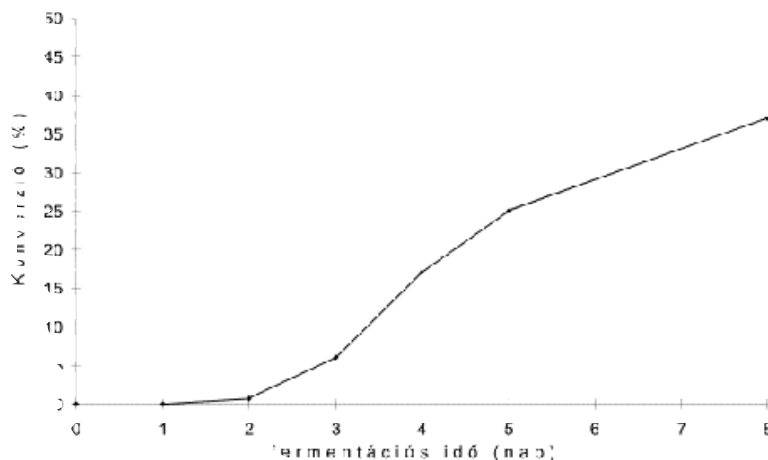
A szulfanilsav az iparban régóta ismert és használt vegyület: a szulfonált aromás aminok tipikus képviselője, melyeket elterjedten gyártanak intermediereként az azo-festékek, növényvédő szerek és gyógyszerek előállításában. A szulfanilsav lebontása lassú és nem teljes, részben erős negatív töltése, részben pedig a szulfoncsoport toxikus volta miatt. A szulfanilsav több szulfonamid gyógyszer szintézisében is szerepel intermediereként,

mely jelzi baktericid hatását. A szulfonamidok fiziológiai hatása azon alapszik, hogy a nukleotid bioszintézist gátolják. A feladat tehát az volt, hogy egy mikroorganizmusok ellen használt vegyület bontsunk mikroorganizmus segítségével. Hatékony megoldást eddig tudásunk szerint nem sikerült kifejleszteni, noha e témával régóta foglalkoznak több kutató laboratóriumban is [6,7].

Kísérleteinkben sikeresen izoláltunk egy baktériumfajt, mely az erősen toxikus környezetben képes volt fennmaradni a szulfanilsavat, mint egyedüli szénforrást felhasználva. A döntő reakció ez esetben is egy oxidatív lépés a sejt oxigenáz enzime segítségével. A kezdő lépés egy katekolmolekulát hoz létre, mely a biológiában ismert vegyület, így könnyen kezelhető a további kémiai és/vagy biológiai lebontásban. A többlépéses folyamat végeredménye szén-dioxid és víz. A szerves anyag nagy részét a sejtek saját anyagcsere-folyamataikban használják fel.

A hatékonyság növelése és a sterilitás biztosítása érdekében ebben az eljárásunkban is bevetettük jól kidolgozott immobilizációs technikánkat. A mikrobiológiai lebontó eljárást a különlegesen ellenálló anyagcserével rendelkező baktérium izolátumunk segítségével végeztük, melyet a balatonfűzfői Nitrokémia Rt. szulfanilsavgyártó üzemének környezetéből, a szennyeződés forrásából izoláltunk. Módszerünkkel rövid idő alatt (4–5 nap) egy bakteriális törzs segítségével 70–80 % konverziót tudtunk elérni laboratóriumi körülmények között.

A sejtek növekedésére és bontókapacitására komoly befolyást gyakorolnak a környezeti tényezők. Mikroelem-elegy és vas(II)-szulfát hozzáadásával



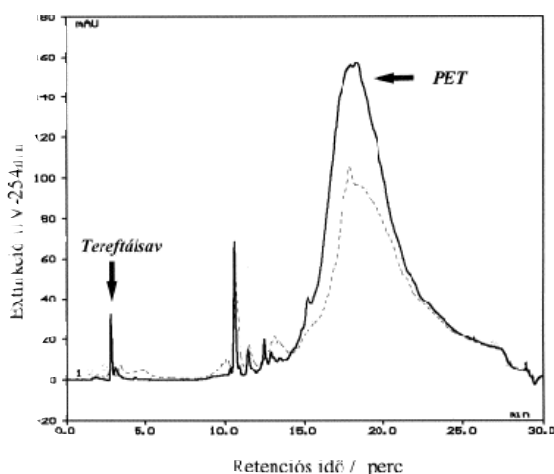
3. ábra Szulfanilsav bontása ipari szennyvízben egy bakteriális törzs segítségével

jelentősen javult a sejtek aktivitása. Megvizsgáltuk a baktérium szulfanilsavval szembeni tűrőképességét. Azt tapasztaltuk, hogy 0,1–2 % tartományban rendkívül jó a bontóképeség, csak 2 % (116 mM) felett romlik a biológiai aktivitás. Teljesítménye alapján a rendszer képes például balatonfűzfői Nitrokémia Rt. szennyvizével elfolyó szulfanilsav szennyeződés kezelésére is. Ezt illusztrálja a 3. ábra, ahol a gyárból kibocsátott szennyvízzel folytatott kísérletben a szulfanilsavat 37 % feletti hatékonysággal tudtuk bontani egy hét alatt. A fejlesztést az OMFB támogatásával végeztük.

PET-bontás mikroorganizmusokkal

A vegyipari melléktermékek és rovarirtó szerek mellett nagy jelentősége lehet az egyelőre kísérleti stádiumban lévő PET biodegradációval foglalkozó projektünknek. A világ műanyag-felhasználása évről évre nő, és a táguló piacon a kereslet a legnagyobb mértékben a polietilén-tereftalát (PET) iránt növekszik. Ez igen közismert műanyag (a törhetetlen pille palackok anyaga), mely ugyan nem egészségkárosító, de mivel nem bomlik le a környezetben, és elégetése jelentős légszennyezéssel jár, jelentős szennyező anyag.

Felmerül a kérdés, mi lesz a sorsa a fennmaradó, óriási mennyiségű, környezetbe kikerülő szintetikus műanyagoknak. A válasz egyértelmű: valahogyan meg kell semmisíteni, vagy át kell alakítani újrafelhasználható anyaggá. Célunk egy olyan új technológia kifejlesztése, amely képes mikroorganizmusok segítségével hatékonyan, környezet-szennyező anyagok termelése nélkül lebontani a



4. ábra A polietilén-tereftalát (PET) mikrobiális bontása. A folytonos görbe a kiinduláskor, míg a szaggatott görbe a 9. napon vett minta HPLC kromatogramja.

PET-et, mely a jövőben felválthatja az eddig kizárólagosan alkalmazott, drágább, nehezebb és általában nem környezetbarát hulladékégetéses technológiákat.

Munkánk során olyan mikroba konzorciumokat izoláltunk, melyek képesek ezt a polimert lebontani és egyedüli szénforrásként felhasználni. Kísérletekhez szulfocsoportokkal vízdoldhatóvá tett polietilén-tereftalátot használtunk. Bizonyítottuk, hogy a PET-műanyagok mikroorganizmusokkal bonthatók (4. ábra). Egyes baktériumokkal három hét alatt 75 százalékos konverziót tudtunk elérni: a PET koncentrációja a tápoldatban 20 g/l-ről 5 g/l-re csökkent.

A polietilén-tereftalát enzimatikusan fragmentálható, egyes baktériumtörzsek szekretálnak ilyen észteráz exoenzimeket. A részlegesen tisztított enzimek a 2 g/l PET-et tartalmazó tápoldatból a polimert 2 nap alatt teljesen degradálják. A keletkező fragmenteket az általunk izolált baktériumok felveszik és energiaforrásként felhasználják.

A fent leírt eredmények tükrözik, hogy a nem mindig környezetbarát és költséges kémiai, fizikai eljárások felválthatók vagy kiegészíthetők biológiai eljárásokkal, melyek – költségkímélő módszerekkel – képesek akár teljesen és tisztán eltávolítani a szennyező anyagot a környezetből.

Irodalom

- [1] Caplan, J.A. (1993) The worldwide bioremediation industry: prospects for profit. *TIBTECH*, 11: 320-323.
- [2] Liu, S., Sulfitá, J.M. (1993) Ecology and evolution of microbial populations for bioremediation. *TIBTECH*, 11: 344-352.
- [3] Kovács K.L., Polyák, B. (1991) Hydrogenase reactions and utilisation of hydrogen in biogas production and microbiological denitrification systems. In: Proceedings of the IGT Symposium, Colorado Springs, Chapter 5, pp. 1-16.
- [4] Murrell, J.C., Dalton, H. (1992) In: Methane and methanol utilizers. Plenum Press, New York.
- [5] Tsien, H.C., Brusseau, G.A., Brusseau, R.S., Hanson, R.S., Wackett, L. (1989) Biodegradation of trichloroethylene by *Methylosinus trichosporium* OB3b. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 2960-2964.
- [6] Feigel, B.J., Knackmuss, H.-J. (1988) Bacterial catabolism of sulfanilic acid via catechol-4-sulfonic acid. *FEMS Microbiol. Lett.*, 55: 113-118.
- [7] Dangmann, E., Stolz, A., Kuhm, A.E., Hammer, A., Feigel, B., Noisommit-Rizzi, N., Rizzi, M., Reuss, M., Knackmuss, H.-J. (1996) Degradation of 4-amino-benzene-sulfonate by a two-species bacterial coculture. Physiological interactions between *Hydrogenophaga palleronii* S1 and *Agrobacterium radiobacter* S2. *Biodegradation*, 7: 223-229.

Élménybeszámoló a 25. FEBS kongresszusról

A koppenhágai FEBS találkozón egyszerre két jubileumot is ünnepelhettünk. Ez volt ugyanis a 25. FEBS kongresszus, és ugyanakkor 30 éves a szervezet újsága, a *FEBS Letters*. A kezdeti évek nehézségeit és szépségét idézték meg program előtti előadásaikban S.P. Datta és W. Whelan. A *FEBS Letters* jubileumi számát, benne több előadás és poszter anyagával a kongresszus résztvevői ingyen megkapták (nem beszélve a poszter diskussziók után délutánonként emlékpohárban felosztott kiváló Tuborg sörről).

A jubileumi találkozóra a szervezők több Nobel-díjas előadót is meghívtak. B. Samuelsson nyitóelőadását (Prostaglandinok és leukotriének), T.R. Cech plenáris előadását (Ribozimek és telomeráz) valamint E. Krebs szimpóziumi bevezető előadását (Fehérje foszforiláció és apoptózis) mindenki élvezettel hallgatta. Újításnak számított a népszerű tudománypolitikai előadások bevezetése. Különösen megragadta figyelmemet G. Schatz eszmefuttatása a svájci referendumról, ami egy időre megkérdőjelezte a biotechnológiai kutatás jövőjét ebben az országban. Bár a szavazás eredménye a tudomány szempontjából előnyösen alakult, a társadalmi vita még korántsem zárult le. Úgy tűnik, hogy az emberek multinacionális monopóliumok iránti haragja és

az újtól való félelme a kutatók közösségén csapódott le. Számomra az a tanulság fogalmazódott meg, hogy ha nem szeretnénk a társadalmi elégedetlenség miatti bünbakkeresés ártatlan céltábláivá válni, a tudományos közösségnek egyértelműen bizonyítania kell, hogy nem a könyörtelen profitszerzés, hanem az egész emberiség érdekében tevékenykedik. Ez különösen nehéz feladat azon kollegák számára, akik a multinacionális cégek fizetett alkalmazottai.

A kongresszus öt napján összesen 41 – jórészt párhuzamosan zajló – szimpóziumot szerveztek, amit egyetlen résztvevő természetesen nem tud áttekinteni. Ezért néhány általános megjegyzés után a számomra legérdekesebb témákat ismertetem. A szimpóziumokon a 3–4 hosszabb (félórás) előadást két

kiválasztott poszter rövidebb (negyedórás) ismertetése követte. Az utóbbi megoldás jó lehetőséget adott kevésbé ismert fiatalok bemutatkozására. A földrajzi közelség és személyes kapcsolatok révén relatív skandináv túlsúly alakult ki; bár ez nem volt szembetűnő, ugyanis a skandináv laborokban is sok külföldi dolgozik. Szerintem a legszínvonalasabb előadásokat az amerikaiak tartották, ami jelzi a FEBS amerikai kapcsolatainak erősödését és azt a tényt, hogy az európaiak nem tudják felvenni a versenyt a nagy USA kutatóközpontokkal. Számomra a jelátvitellel, sejtciklussal, a protein kinázokkal és az ATP-ázokkal foglalkozó szekciók voltak a legérdekesebbek. Az utóbbiban tartott sikeres előadást az ABC-transzporterekről az egyetlen magyar meghívott előadó, Sarkadi Balázs.

A fehérje foszforiláció kétségkívül központi szerepet kapott a kongresszuson. A kinázokat áttekintő szimpózium különbözött a többiektől, nemcsak a Nobel-díjas előadóelnök (E. Krebs) személye, hanem az előadások nagy száma miatt is (itt nem jutott idő a poszter ismertetésére). A sztár kétségkívül a CK2 nevű protein kináz volt, melynek háromdimenziós szerkezetét dániai együttműködéssel a közelmúltban határozták meg. Az enzim tulajdonságait J.E. Allende az 1. PABMB plenáris előadásán

ismertette, majd a szimpóziumon három további előadás foglalkozott az enzimfehérje szerkezetével és lehetséges fiziológiai szerepével. Bár regulátora még mindig nem ismert, valószínű, hogy a CK2 fontos szerepet játszik a rák kialakulásában. A kináz téma méltó összefoglalását adta L.N. Johnson konferenciazáró előadása. (Az előadás anyagát első cikként hozza a *FEBS Letters*, 430/1,2 jubileumi száma.) A művészi szinten illusztrált előadás szerkezeti alapokon teremtett rendet a protein kinázok szerkeázó enzimcsaládjában.

A zsúfolt programban kevesebb idő jutott a poszterek megbeszélésére. A lehetőségeket korlátozta, hogy egy poszter csak egyetlen napig volt kifüggesztve, és a megadott diskussziós időpont ütközött az előadások programjával. Ennek ellenére



sikerült régi ismerősökkel és új érdeklődőkkel elbeszélgetni. A hagyományos formátum mellett egyre gyakoribbak a modern komputergrafika és nyomtatástechnika segítségével szerkesztett látványos poszterek, és néhány esetben már mellékeltek a kicsinyített fekete-fehér ún. mini-poszter változatot is.

A cégek kiállítása viszonylag szerényre sikerült. A legteljesebb választékot az újság- és könyvkiadók mutatták be. Meglepően sok a jól illusztrált biokémiai illetve molekuláris biológiai kiadvány. A széles olvasótábor számára írt tankönyvek mellett a polcokon sorakoztak a speciális célokat szolgáló szakkönyvek és folyóiratok is. A publikáció terén is hódítanak az elektronikus termékek, a szellemes komputerrel szimulált oktató programok.

A kongresszusnak otthont adó Bella Center hatalmas, modern épülete a megközelítési nehézségek-

től eltekintve kellemes környezetet biztosított a résztvevők számára. A szervezők minden tőlük telhetőt megtettek a kongresszus sikere érdekében. A városban sétálva feltűnt, hogy a koppenhágaiak többsége jól töri az angolt, és hogy bőséges angol nyelvű írott információ állt rendelkezésre a külföldiek tájékoztatására. A dánok vendégszerető, jó házigazdának bizonyultak. Nem ők tehetek róla, hogy a hazai fizetésekhez képest az ottani életet túl költségesnek találtuk.

És a kis habléány?

Valóban kicsiny és szép, mint szülőhazája Dánia!

Debrecen, 1998. július 14.

Dombrádi Viktor

Vámkaland

Gondolom, egyesületünk jó néhány tagja került már a kórházi ápolás küszöbére amiatt, hogy a külföldi együttműködő partnerétől érkezett minták vagy a drága pénzen beszerzett fehérjék, antitestek napokig, hetekig heverésztek az ilyen-olyan rendű és rangú vámhivatalok polcain. A hihetetlen nevű engedélyek és nyilatkozatok bemutatása után megkapott minták ilyenkor sok esetben a szó szoros értelmében is bűdösek, de ennek híján is szinte mindig használhatatlanok voltak. A 14 magyarországi Howard Hughes ösztöndíjas, köztük Sarkadi Balázs és e sorok írójának kezdeményezésére tavaly közös levélben fordult Glatz Ferenchez, az MTA elnökéhez és Magyar Bálint akkori művelődési miniszterhez. Glatz úrtól kezdeményezésünkre mind a mai napig válasz nem érkezett. Magyar Bálint viszont átíratot intézett Medgyesi Péter, akkori pénzügyminiszterhez, úgy is, mint a Vám- és Pénzügyőrséget felügyelő kormánytaghoz. Ennek eredményeképpen Arnold Mihály altábornagy, a Vám- és Pénzügyőrség országos parancsnoka 1998. június 2-án utasítást adott ki a gyorsan romló, tudományos kutatás

célját szolgáló anyagok sürgősségi vámkezeléséről: „Miniszter úr levelére a területi vámszerveket felkértem, hogy a felügyeletük alá tartozó vámhivatalok felé intézkedjenek annak érdekében, hogy a kísérleti anyagok mielőbb vámkezelésre kerülhessenek, s ehhez a vámkezelést kérőnek minden tőlük telhető segítséget adjanak meg – közvetetten támogatva ezzel a Magyarországon folyó tudományos kutatást.”

A fenti, Magyar Bálinthoz íródott levélben említett utasítást a vámhivataloknak be kell tartaniuk. Amennyiben tagtársaink ettől eltérő viselkedést tapasztalának, forduljanak a területileg illetékes megyei vámhivatal parancsnokához, és kérjék segítségét. Elintézetlen panasz esetén a Vám- és Pénzügyőrség Országos Parancsnoksága belső vizsgálatot indít, amely a megrohadt anyagon már bizonyára nem segít, de közös fellépéssel a vámhivatalokat ésszerűbb magatartásra készítheti.

Csermely Péter

Van, aki forrón szereti?!

A biokatalizátorok stabilitása volt a témája az 1998. április 19. és 22. között Córdobában megrendezett nemzetközi konferenciának (Stability and Stabilization of Biocatalysts). Az Európai Biotechnológia Szövetség által szervezett kongresszuson több mint 200 szakember vett részt földrészünk közel 20 országából, köztük hazánkból is.

A világörökség egyik kincse, a córdobai Mezquita (mór mecset) tőszomszédságában levő Kongresszusi Központ történelmi falai nyújtottak otthont az idej, egyik legjelentősebb európai biotechnológiai rendezvénynek. Bár újabb Dolly-k világra-jövetelét most nem jelentették be, a konferencia nem szűkölködött izgalmas, „forró” témákban. (A résztvevők „hűtéséről” a légkondicionálókon kívül apró záporok is gondoskodtak. Bizony még a napfényes Andalúziában is csepereg néha az eső – legalábbis a szeszélyes április folyamán...).

Az egyik legérdekesebb előadást a holland Colja Laane tartotta „Van, aki forrón szereti” címmel. A Wageningeni Agrártudományi Egyetem professzora hőtűrő mikroorganizmusokkal foglalkozik. A *Pirococcus furiosus* nevű mikrobát nemrégiben izolálták vulkáni hóforrásokból. Ez az egysejtű 90 és 105 °C közötti hófoktartományban érzi jól magát, 60 °C-on aktivitása megszűnik. Laane és kollégái most azon dolgoznak, hogy e különleges élő-

lény anyagcsere-folyamatait feltárják és jellemezzék. Céljuk az, hogy a mikroorganizmus segítségével a vegyiparban hasznosítható folyamatokat valósítsanak meg. Az egyik ilyen lehetséges eljárás pl. a mikroba ún. aldehid-dehidrogenáz enzimszere segítségével aldehidek, savak átalakítása alkoholokká. A forró reakcióelegyből így a képződő illékony anyagok egyszerűen elgőzölögnek, s visszacsepregő hűtők segítségével tisztán kinyerhetők. Az eljárás igen jó hozammal kecsegtet, a termék kinyerése egyszerű. Ráadásul a biokémiai folyamat (fermentáció) egyszerű, „mezei” tartályreaktorban (rotyogó fazék) megvalósítható, hiszen – a normál hőfokú biokonverziókkal ellentétben – itt a fertőzésveszély gyakorlatilag nulla! Nincs szükség steril körülményekre. S ez tetemes költségmegtakarítást jelent.

A következő, biomérnöki témákkal foglalkozó konferenciának Portó (Portugália) ad otthont 1998. szeptemberében (European Symposium on Biochemical Engineering Science), ahonnan – remélhetőleg – e tudományág további, hasonlóan érdekes, „forró” területeiről (hot spot) számolhatunk be.

Bélafiné dr. Bakó Katalin



Miből lesz a cserebogár?

Rövid beszámoló a „Formaldehid szerepe biológiai rendszerekben – Metilezési és demetilezési folyamatok” címmel rendezett 4. Nemzetközi konferenciáról (1998. július 1–4, Budapest, Aquincum Szálló)

Nagyrészt hazai vizsgálatok eredményeként az elmúlt évtizedekben egyre inkább előtérbe került a formaldehid szerepe a spontán kémiai reakciókban (pl. az *L*-lizin spontán kémiai metilezése), majd az enzimatis metilezési és demetilezési folyamatokban. A legújabb korszerű szerkezetvizsgáló technikákkal (pl. MALDI MS) végrehajtott vizsgálatok szerint is a formaldehid – nagyrészt különböző kötéseiről hidroximetil-csoportokon át – előfordul valamennyi biológiai rendszerben, izolálható, mérhető, s vele a rendszer jellemezhető is.

A mintegy 31 órális előadást és 25 poszterbemutatót magában foglaló konferencia témaköréhez kapcsolódott – érthető módon – a „klasszikus”, enzimatis metilezési és demetilezési folyamatok néhány jelentős eredménye is, lényegében a „formaldehid-szemléletű” előadások/bemutatók bevezetőjeként. Megtisztelő volt a konferencia résztvevői számára, hogy a fehérje-metilezés „atyja” és „anyja”, több metiláz enzimet elsőként izoláló W.K. Paik és S. Kim [USA–Korea] is részt vett a konferencián, ahol a fehérje-arginin-N-metiltransferáz molekuláris azonosításáról számoltak be. E szekcióban jelentette be M. Szyf [Kanada] egy új DNS-metiláz enzim izolálását, amely kritikus szerepet játszik a fejlődésben és az onkogenezisben.

Ma már esszenciális, metilezett vegyületekről beszélhetünk (pl. *L*-karnitin), amelyek vizsgálatáról is több előadásban (pl. Szilágyi M., Hullán L.) és poszterbemutatóban számoltak be.

A formaldehid, mint legegyszerűbb és legreaktívabb alifás aldehid, különleges reakciókban vesz részt, ezért többszemponútú elméleti analízise indokolt, ami az elméleti szekcióban került összefoglalásra (pl. E.M. Evleth [Franciaország], Kozmutza C., Kalapos M.P.).

A különböző eredetű formaldehid (kipufogógáz, dohányfüst, ipari gázok stb.) egészségkárosító (toxikus; mutagén, karcinogén) hatása régóta

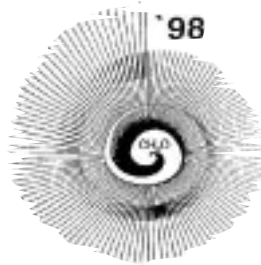
ismert. Az e témakörben elhangzott előadásokból kiemelkedett R.C. Grafström [Svédország] előadása, aki humán eredetű sejt kultúrákban végzett összehasonlító vizsgálatokkal bizonyította a formaldehid citopatológiai hatásának egyedülálló spektrumát más károsító anyagoktól (pl. acetaldehid, akrolein) jól megkülönböztethetően. Az előadás bemutatta e citopatológiai hatások mechanizmusát, s ezen keresztül betegség (különösen a rák) indukálásának lehetőségét. Egyéb előadások és bemutatók (pl. G. Schuh [Németország], Vargha V., Tréz L.) újabb értékes információkat nyújtottak a formaldehid toxikológiájához.

Nyilvánvaló, hogy a különböző utakon (metilezés, demetilezés, biológiai oxidáció stb.) képződő formaldehid legkülönbözőbb reakciókban vesz részt a biológiai rendszerekben.

Különösen fontos szerep jut tehát a formaldehidgenerátor és -befogó molekuláknak, amelyek például jelentős faktorai lehetnek a mitotikus és apoptotikus folyamatoknak (Szende B.). Ma már egyre nyilvánvalóbb, hogy a két kis molekula: a formaldehid és a hidrogénperoxid kölcsönhatása adott lehet a legkülönbözőbb szövetekben, sejtekben, ami szélsőséges esetben patológiás folyamatok elindítója lehet (Mészáros Zs.), de az *in situ* képződő formaldehid (demetilezés) (Kalász H.) pl. biológiailag aktív molekulák hatásmechanizmusában játszhat szerepet. A nem kívánt formaldehid felhalmozódást pl. amino-tiolokkal eliminálni lehet (S.D. Bird [Új-Zéland]).

A formaldehid előfordulását a bioszférában több előadás és poszter bizonyította. G. Blunden [Egyesült Királyság] a formaldehid a növényvilágban való általános előfordulását, míg Tréz L. a gyümölcsökben az *L*-argininhez kötött formaldehidről és a keletkezett vegyület folát-ciklushoz, fotoszintézishez és az apoptózishoz való kapcsolatát mutatta be. A formaldehid és más vegyületek növényi levelekben (Nosticzius Á.), növényi szövettenyészetekben (László I.), valamint az emberi fogfiziológiás és patológiás kemény szöveteiben való képződését és előfordulását részletesen vizsgálták (T.K. Rozylo, R. Siembida [Lengyelország]).

A sokirányú vizsgálatok csak erősítették a korábbi években már leírt formaldehid ciklus létét a bioló-



giai rendszerekben. Most e ciklus és az endogén formaldehidgenerátorok és -befogó molekulák kapcsolatában elért új eredmények kerültek bemutatásra (Tyihák E.), különös tekintettel a kék szőlőben és a belőle készült vörösborban kedvező biológiai (kardioprotektív és rákmegelőző) hatással rendelkező rezveratrol és a formaldehid közötti reakciókra. A formaldehid ciklus és a stressz szindróma egyes fázisai közötti kapcsolat több előadás (T. Jenkins [Egyesült Királyság], A. Jarosz-Wilkolazka [Lengyelország]) és poszter (Albert L., Németh Zs. I., Király-Véghely Zs., Rétfalvi T., Sárdi É., Stefanovits-Bányai É. és mások) témája volt. A formaldehid a rezisztencia-potenciál fázisban a természetes rezisztencia egyik meghatározó molekulája lehet, s a vérszfázisban drámaian megnő a mennyisége (pl. Albert L., Sárdi É.), míg az esetleges indukció (pl. kémiai előkezelés) hatására a metilezett vegyület mennyisége tartósan megemelt lesz a rezisztencia fázisban (T. Jenkins [Egyesült Királyság]).

A formaldehid szerepének megismerése a mikrobiológiai rendszerekben sajátos szempontokat igényel. A formaldehid alapvető molekula a gombakultúrák metilezési folyamataiban is (E. Malarczyk [Lengyelország]), de speciális enzimek kellenek pl. karbamid-formaldehid-gyanták degradációjához (Th. Jahns [Németország]).

Végül a konferencia befejezéseként a formaldehid analízis biológiai mintákban való hatékony módszerei (pl. HPLC) (M. Adrian-Romero [Egyesült Királyság]) és a meghatározás problémái (M. Pazdziuch-Czochra [Lengyelország]) kerültek megvitatásra.

Az elhangzott előadások és bemutatott poszterek, valamint a szóbeli információk alapján egyre nyilvánvalóbb, hogy a formaldehid - a hidrogén-peroxidhoz hasonlóan - valamennyi biológiai rendszer és élő sejt alapvető összetevője - igaz nagyrészt hidroximetil-csoportokon keresztül fejtve ki hatását. Ebből a tényből az is következik, hogy e két kis molekula folyamatos, párhuzamos keletkezése és főleg reakciótermékeik az elővilág meghatározó molekulái lehetnek.

Az eddigi megfigyelésekből az is következik, hogy a formaldehid előfordulását és felhalmozódását illetően rendkívül nagy diverzitással kell számolni. Már többször említettük, hogy a formaldehid nagyrészt különböző kötés-erősségű hidroximetil-

csoportok formájában van jelen (nyilván ez a biológiai előfordulásnak az alapja). Ezért a következőkben hidroximetil-csoportok eloszlásának megismerése különleges módszerek bevezetését igényli, hiszen egy biológiai minta feltárásánál e különleges funkcióval és hatással rendelkező csoportok nagyrészt eltűnhetnek. Ezek a hidroximetil-csoportok az enzimatis metilezési demetilezési folyamatokon túlmenően különböző biológiai oxidációs és egyéb reakciókból is származtathatók.

Bár egyre többet sikerül megtudni e kismolekula előfordulásáról és funkciójáról a különböző biológiai rendszerekben, mégis nagyon sok nyitott kérdés áll előttünk, amelyek közül most csak néhányat említünk meg: a különböző kötés-erősségű hidroximetil-csoportokból a formaldehid mobilizálása endogén és exogén ún. formaldehid-befogó molekulák segítségével; a növényi elsődleges formaldehid felhalmozódás, s így a metilcsoportok elsődleges eredetének tisztázása; a formaldehid szerepének egyértelmű tisztázása a programozott sejthalálban.

Az formaldehidet vizsgáló kutatóhelyek száma egyre növekszik, ami megfelelő reményt nyújt arra vonatkozóan, hogy szélesebb alapokon még átfogóbb felismerésekhez sikerül eljutni.

A jelenlévők úgy döntöttek, hogy az 5. konferencia is a kiinduló országban, az ezredfordulón kerüljön megrendezésre. Egyébként az érdeklődők az elhangzott előadások és bemutatók anyagát részleteiben az *Acta Biologica Hungarica* különszámában ismerhetik majd meg.

Úgy tűnik, „cserebogarunk”, vagyis a formaldehid tematika, a legfontosabb fejlődési állapotokon átment már: a peterakás 1978-ban kezdődött, amikor vírusfertőzött dohánynövényekben emelkedett formaldehidszintet mutattunk ki, majd számos lárva-stádiumon (spontán formaldehid reakciók, enzimatis metilezési folyamatok) és bábozódáson (pl. a kék szőlő héjában jelen lévő rezveratrol reakciója a formaldehiddel) át eljutott a felnőtt stádiumig, azaz remélhetőleg a tavaszi felrepülés időszaka következik.

Budapest, 1998. augusztus 31.

Tyihák Ernő

A Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológia Szakosztályának 3. Munkaértekezletéről

Május közepén Sárospatakon rendezte meg a Molekuláris Biológiai Szakosztály sorrendben harmadik munkaértekezletét. Hasonlóan a korábbi két munkaértekezlethez – Seregélyes, 1996 és Lillafüred, 1997 – a szervezők ez alkalommal is igen sikeres rendezvényt tudtak biztosítani a 250 regisztrált résztvevőnek. A munkaértekezlet iránti nagy érdeklődés, az elhangzott előadások és bemutatott poszterek igényessége minden kételkedőt meggyőzhet: a Szakosztály által átfogott tudományterület hazai népszerűsége és színvonala indokolja a munkaértekezlet évenkénti megrendezését. Sokkal inkább az merül fel kérdésként, hogyan biztosítható az, hogy az értekezlet ne nője túl magát, és követhető programmal biztosítson alkalmat és időt (is) a szakma művelőinek találkozására, véleménycseréjére.

Az ez évi rendezvény tudományos programjának összeállításához a szakosztály vezetői nagyobb-

részt a tudományterület középkorú nemzedékéből kértek fel szekcióvezetőket, és külön szorgalmazták, hogy a fiatal kollégák minél nagyobb számban kapjanak bemutatkozási lehetőséget. Ez sikerült is, és minden bizonnyal hozzájárult ahhoz, hogy jól összeállított programban, tartalmilag és előadástechnikailag is színvonalas előadásokat hallhatott a dicséretesen érdeklődő és kitartó közönség. Új eleme volt a programnak, hogy a szervezők meghívtak magyar származású, de tartósan külföldön élő és dolgozó, vagy hosszabb idejű külföldi tanulmányúton kint dolgozó kutatókat előadások tartására. Ezek a bemutatkozások igen színvonalas és érdekes előadásokat eredményeztek. Feltétlenül érdemes a hazai és külföldi laboratóriumokban dolgozó kollégák kapcsolattartását a jövőben is hasonló formában segíteni.

A rendezvényen tíz szekcióban összesen 76 előadás hangzott el, és 81 poszter került bemutatásra.

| Szekció | 1998. Sárospatak előadás / poszter | 1997. Lillafüred előadás / poszter | 1996. Seregélyes előadás / poszter |
|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Növényi molekuláris biológia | 5 / 5 | 5 / 6 | 7 / 2 |
| Molekuláris immunológia | 7 / 8 | 7 / 5 | 6 / 6 |
| Jelátvitel és jelfeldolgozás | 9 / 7 | 6 / 7 | 5 / 6 |
| Molekuláris diagnosztika | 9 / 11 | 6 / 20 | 13 / 17 |
| Molekuláris sejtbiológia | 8 / 9 | | 12 / 15 |
| Molekuláris fejlődésbiológia | 9 / 9 | 5 / 5 | |
| Genetika, génexpresszió szabályozás | 9 / 14 | 9 / 12 | |
| Molekuláris állatbiológia | 6 / 0 | | |
| Szerkezeti biológia | 8 / 16 | | |
| Bioinformatika | 6 / 2 | | |
| Citomátrix és citoskeleton | | 8 / 1 | |
| Proteázok | | 7 / 5 | |
| Sejtciklus | | 5 / 9 | |
| Molekuláris neurobiológia | | 7 / 3 | |
| Fehérjetervezés | | | 5 / 3 |
| Extracelluláris mátrix | | | 6 / 1 |
| Molekuláris mikrobiológia és genetika | | | 12 / 17 |
| Összesen | 76 / 81 | 65 / 55 | 66 / 67 |

Érdekes lehet, és tükrözi a szakosztály által átfogott terület kiterjedését – talán azt is, hogy miből is áll a hazai molekuláris biológia – a három eddigi munkaértekezlet szekcióinak összevetése, amit táblázatos formában is bemutatok. Egyes területek (*Növényi molekuláris biológia, Molekuláris immunológia, Jelátvitel és jelfeldolgozás, Molekuláris diagnosztika*) mindhárom eddigi rendezvényen önálló szekcióként szerepeltek. Két alkalommal kaptak önálló szekciót a *Molekuláris sejtbológia* (1996, 1998) és *Molekuláris fejlődésbiológia* (1997, 1998) képviselői. Mindhárom alkalommal megrendezésre került továbbá 2–4 olyan szekció, ami egy-egy specifikusabb terület képviselőinek adott lehetőséget a bemutatkozásra (1996: *Fehérje-tervezés, Extracelluláris mátrix*; 1997: *Citomátrix, citoszkeleton, Proteázok, Sejtciklus, Molekuláris neurobiológia*; 1998: *Szerkezetbiológia, Bioinformatika*). Az átfedések és összekapcsolódások miatt nehéz – de talán fölösleges is – az egyes területeket élesen elhatárolni. Így pl. az 1997-ben és 1998-ban szerepelt *Genetika, génexpresszió-szabályozás* szekcióban bemutatott eredmények és az 1996-os *Molekuláris mikrobiológia és genetika* valamint a *Molekuláris állatbiológia* (1998) szekciók anyaga igen sok tekintetben összekapcsolódik, és ugyanannak a témakörnek tekinthető. Az összesítés mégis jelezheti, hogy melyik az az öt-hat szekció, amelyhez évről-évre elegendő, bemutatásra alkalmas új anyag halmozódik fel, és melyek azok a területek, amelyeket az eddigi gyakorlatot folytatva, 2–3 évente érdemes szerepeltetni.

A három munkaértekezlet programjának áttekintése jelzi azt is, hogy milyen kiterjedt kutatási területen és milyen termékenyen működik a hazai molekuláris biológia. Ma Magyarországon molekuláris biológiának tekinthető kutatásokat egy országosan igen kiterjedt intézményhálózatban folytatunk: a sárospataki rendezvényen bemutatott 157 előadás és poszter anyagát képező eredmények pl. több mint harminc hazai intézmény munkatársainak munkájából származtak. A legtöbb beszámoló az SZBK, ELTE, DOTE, SOTE és MBK intézeteiből és tanszékeiről származott, de minisztériumi kutatóintézetek és gyógyszergyárak egyaránt képviselve voltak az előadók/poszter bemutatók között. Összehasonlításként érdekes megemlíteni, hogy a mai munkaértekezletek előfutárának tekinthető MBT Nukleinsav Munkaértekezletek közül a 2. szinte napra pontosan húsz

évvel a sárospataki munkaértekezlet előtt, 1978 májusában volt, Keszthelyen. Akkor 27 előadás hangzott el összesen kilenc kutatóhelyről. Egy másik feltűnő jellegzetessége a Sárospatakon bemutatott munkáknak, hogy a kutatási területek rendkívül széles körű együttműködését jelzik. A beszámolók több mint fele két vagy több intézmény munkatársainak együttműködésével készült, és több mint harmadában (57) külföldi laboratórium az egyik közreműködő partner. A munkaértekezletek programjait a molekuláris biológia nemzetközi vonulataival összehasonlítva az is feltűnő, hogy mi hiányzik belőlük. Nem jelent még meg elég hangsúlyosan a munkaértekezleteken a tudományterület néhány olyan nemzetközileg igen dinamikus fejlődő területe, mint pl. a genomika, a molekuláris biológia alkalmazása a genomok szerveződésének és azzal kapcsolatos evolúciós összefüggések vizsgálatában, a környezetbiológiában és biotechnológiában. Azt, hogy ennek oka az említett területek hiánya a hazai molekuláris biológia palettájáról, vagy csak képviselőinek távolmaradása a munkaértekezletről, nem a beszámoló feladata megítélni. A következő évek munkaértekezleteinek programja bizonyára lehetőséget ad majd megismerkedni tudományágunk ezen területeinek eredményeivel is.

A hagyományokhoz híven a sárospataki rendezvényen is sor került a terület legszínvonalasabb eredményeiért járó díjak átadására. A Bio-Science Kft. által felajánlott díjat egy, az elmúlt évben megjelent tudományos publikáció elismeréseként Fuxreiter M., Böcskei Zs., Szeibert A., Szabó E., Dallmann G., Náray-Szabó G. és Asboth B. kapták a *Proteins* folyóiratban megjelent közleményükért (Role of electrostatics at the catalytic metal binding site in xylose isomerase action: Ca(2+)-inhibition and metal competence in the double mutant D254E/D256E. *Proteins*, 1997. **28** (2): 183-193), aminek egyik ábráját a folyóirat címlapfotóként közölte. A Sigma-Aldrich Kft. vegyszervásárlásra ajánlott fel díjakat színvonalas előadások és poszterek elismerésére. Ezeket Hutvágner György (MBK, Gödöllő) (50 eFt), Pálmai-Pallag Tímea (SZBK Genetikai Intézet, Szeged) (35 eFt) és Ullrich Beáta (SOTE Biofizika Tanszék, Budapest) (25 eFt) kapták. Az MBK Legjobb Ifjúsági Előadás Díjait Kozma-Bognár László (SZBK, Növénybiológiai Intézet, Szeged) „A fitokróm B fotoreceptor

molekuláris és funkcionális analízise transzgenikus növényekben” és Szabó Gyula (MBK, Gödöllő) „A miosztatin gén deléciója okozza a compact egér erőteljes izmoltságát” című előadásaiért kapták.

Végezetül feltétlenül köszönetet kell mondani a Munkaértekezlet megszervezésében és technikai lebonyolításában közreműködőknek. Elismerés mindazoknak a szervezőknek, akik az MBK részéről, mindazoknak akik a Sárospataki Művelődési Ház részéről biztosították a négynapos zökkenőmentes programot. Ez a munkaértekezlet azon kivételes rendezvények egyike volt, ahol a közreműködők odafigyelése és lelkiismeretes

munkája eredményeként a vetítés és hangosítás nehézségei egyetlen alkalommal sem zavarták meg a tudományos programot. Ami pedig az ellátást illeti, a Rákóczi vár udvarán élvezett reneszánsz vacsora – melynek fogásait olyan különlegességek gazdagították mint pl. „Nemes Ölveti Menyhért uram címeres csukája” és „Nyárson sült jérce gyömbéres lében” – biztosította, hogy a résztvevők legtöbbször e tekintetben is sokáig emlékezetes marad a 3. Munkaértekezlet.

Boros Imre

BIO-RAD

LÁTOGASSA A BIO-RAD WEB LAPJÁT,
AHOL RENDSZERESEN FRISS INFORMÁCIÓT TALÁL ÚJ TERMÉKEINKRŐL.

AZ IRODALMI GYŰJTEMÉNYBŐL VÁLOGATHAT, ÉS A KIVÁLASZTOTT ANYAGOT MEGKÜLDJÜK ÖNNEK.

www.bio-rad.com

BUDAPESTI KÉPVISELETÜNK ÁLLANDÓAN A RENDELKEZÉSÉRE ÁLL.

ÚJ TERMÉKEK: FX Phosphor Imaging system
Gel Doc 2000
DNA purification, sample preparation
Multi Photon Microscopy
New Ion Exchange supports

SPECIÁLIS AJÁNLAT: Biotechnológiai oktatási támogatás

AKCIÓ: Benchtop, ready gel



Biorad@elender.hu

TEL./FAX: 214-4304, 355-9641

BIOCHEMICAL EDUCATION

CONTENTS

Volume 26 number 1

January 1998

| | |
|--|----|
| Teaching Bioinformatics. H Salter | 3 |
| Mechanism of Action of Local Anaesthetics: a Practical Approach to Introducing the Principles of pKa to Medical Students. M. Lucia Bianconi | 11 |
| A Long, Long Time Ago in a Land Far Away... a Story About α -Ketoglutarate. D Bootland | 14 |
| Some Basic Concepts in Enzyme Purification: Northrup's Solubility Test for the Purity of Proteins Revisited. Srinivasan | 16 |
| Medical Students' and General Practitioners' Perception of Biochemistry in Relation to Medicine. O A Owolabi, K M Anig and N M Shuaibu | 18 |
| Playing with Cellular and Humoral Immunity. D Colombo, A Fritsch, K Gomes Ordovas, A Spode and M Lucia Scroferneker | 20 |
| How Does the Ratio of ATP Yield from the Complete Oxidation of Palmitic Acid to that of Glucose Compare with the Relative Energy Contents of Fat and Carbohydrate. I G Darvey | 22 |
| Is Free Ethanolamine Required as a Catalyst for the de novo Biosynthesis of Phosphatidylethanolamine and Ethanolamine in Mammals? I G Darvey | 24 |
| Internet Assisted Learning of Biochemistry in Japan. T Hamamoto and Y Kagawa | 27 |
| IUPAC—IUBMB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN) and Nomenclature Committee of IUBMB (NC-IUBMB) | 30 |
| <i>Features Section</i> | |
| Problem-based Learning. C A Smith | 34 |
| Modelling Molecular Structures. A Hinchliffe | 35 |
| Computer-aided Learning. G R Parslow | 40 |
| Oxygen Consumption by Isolated Mitochondria: Software for Planning and Interpreting Experiments. E Galembeck, R T Kubo, D V Macedo and B Torres | 41 |
| Miscellaneous Bytes. G R Parslow | 44 |
| Software Review. J Heritage | 50 |
| Biotechnology Education. R O Jenkins | 51 |
| The Role of Scientific Institutions in the Promotion of Biotechnology to the Public (School, the Massmedia, Entrepreneurs etc). A C Mannino, T Ruzzon, S Lercari and S Uccelli | 52 |
| A Novel Approach to Practical Enzymology Teaching: a Conductimetric Investigation of Arginase, Inorganic Pyrophosphatase, Aliphatic Esterase, Ornithine Carbamyl Transferase and Arginosuccinate Lyase Activities from Mammalian Liver. A Lawrence, A Maclean, J Young and R Stevenson | 56 |
| Isolation of γ -Globulin (IgG) from Serum: a Task that Encourages Students to Consolidate Concepts on Protein Structure and Properties. A I Assis-Pandochi, A C Cspadaro and Y M Lucisano-Valim | 63 |
| A Practical Experiment on Cell Permeabilization and Biochemical Characterisation in situ. A Ponces Freire, A Martins and C Cordeiro | 66 |
| Urine Analyses to Assess the Nutritional Status of Deer in Winter. P Rioux, J-P Ouellet, A Dumont, P U Blier and M Crête | 70 |
| A Simple Experiment Demonstrating the Allosteric Regulation of Yeast Pyruvate Kinase. R L Taber, A Campbell and S Spencer | 74 |
| Biochemical Characterization of Transducin, the G-Proteins of Bovine Retina. J P Muschietti, H E Martinetto and M M Flawi | 78 |

Volume 26 number 2

April 1998

| | |
|--|-----|
| Computer Applications in the Biomolecular Sciences. Part 1: Molecular Modelling. C E Sansom and C A Smith | 103 |
| Teaching and Learning in Groups and Teams. R G Dennick and K Exley | 111 |
| Amino Acid Names and Parlor Games: from Trivial Names to a One-Letter Code, Amino Acid Names have Strained Students' Memories. M Saffran | 116 |
| Is a More Rational Nomenclature Possible? M Saffran | 116 |
| Exercise Biochemistry as an Approach to the Study of Intermediary Metabolism. H Filippusson | 119 |
| Correlation of Examination Performance with Lecture Attendance: a Comparative Study of First-Year Biological Sciences Undergraduates. D Gatherer and F C R Manning | 121 |
| The New Medical Curriculum in India. C V Anand, U Anand and R Agarwal | 124 |
| Teaching Gulf Medical Students about Chemical Solutions by Means of Problem-Solving Laboratory Practicals. M P T Gillett and R A Bayoumi | 126 |
| What do Graduate Destination Data Imply for the Teaching of Biochemistry? S Brown | 130 |
| <i>Features Section</i> | |
| Problem-based Learning. C A Smith | 140 |
| A First Period Exercise in Biochemistry: a Pre-Assessment Case Study. L Henderson | 141 |
| Computer-based Learning. G Parslow | 143 |
| Miscellaneous Bytes. G R Parslow and E J Wood | 144 |
| Biotechnology Education. R O Jenkins | 149 |
| Biotechnology Development in Hong Kong: Infrastructural Support for the Biotechnology and Related Industries. J C Tsang and Y L Lo | 150 |
| International Environmental Law and Biochemistry: an Innovative Teaching Opportunity. J Candlish | 153 |
| <i>Experimental Section</i> | |
| A Simple Immunoassay-based System Capable of Detecting Antibody Raised Against Human IgG. G Walsh, B O'Shaughnessy, N Shanley and J J Tobin | 157 |
| An Experiment Illustrating Metabolic Regulation in situ Using Digitonin Permeabilized Yeast Cells. A Ponces Freire, A Margarida Martins, C Cordeiro | 161 |
| Photosynthesis and Respiration in Leaf Slices. S Brown | 164 |
| Preparation of Reagents for Blood Group Serology: Illustrating Basic Concepts of the Antibody Response. M Miguez, M Marco, S Cáceres and A Nieto | 168 |
| A Modification of the Hanging Drop Method of Protein Crystallisation Suitable for an Undergraduate Class Practical. D Sheehan, C O'Mahony and M Coll | 173 |
| A 96-well Plate Assay for the Study of Calmodulin-activated Ca^{2+} -pumping ATPase from Red-cell Membranes. A D Conigrave and M B Morris | 176 |

A Biochemical Education ezen számai az IUBMB Educational Committee ajándékként megérkeztek a DOTE Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetbe (4012 Debrecen, Pf. 6, Tel./Fax: 52/416-432). Az egyes közlemények másolatát az intézet szívesen megküldi az érdeklődő kollégáknak.

Fésüs László

Membrántechnika

MEMBRÁNTECHNIKA címmel új, magyar nyelvű szaklap jelent a Magyar Kémikusok Egyesülete Membrántechnikai Szakosztályának kiadásában. A műszaki-tudományos kiadvány negyedévenként jelenik meg, mérete A5-ös, címlapja sárga kartonra nyomott. Összesen 22 oldalnyi anyagot tartalmaz kiadványonként. Belső felépítése: egy érdekesnek ígérkező, lehetőleg tudományos téma bővebben kifejtve (közlemény), amit rövid konferencia-felhívások és beszámolók, szakosztályi és egyéb hazai és nemzetközi membrános hírek követnek. Reklámanyagok elhelyezésére is lehetőség van (hátsó borító).

Tallózó a lap 1998/1 számából:

- * Sándor Erzsébet, Karaffa Levente, Martin Krahe, Herbert Märkl, Szentirmai Attila (KLTE Debrecen ill. TU Hamburg-Harburg): Dializáló membránreaktor alkalmazása nagy sejtsűrűségű *Acremonium chrysogenum* tenyészet létrehozására

- * Jegyzőkönyv a szakosztály gyűlésről
- * Beszámoló az ACUMTEA membrános tanfolyamról
- * Konferencia-felhívások
- * Hírek

A szaklap szerkesztősége a veszprémi Műszaki Kémiai Kutató Intézetben működik. Közlemények, hírek, reklámanyagok elhelyezése ügyében kérjük keressék a felelős szerkesztőt (Bélafiné dr. Bakó Katalin, 8200 Veszprém, Egyetem u. 2.

tel.: 88-421 614, fax: 88-424 424,

E-mail: bako@mukki.richem.hu),

aki szívesen fogadja az olvasók észrevételeit, ötleteit, megjegyzéseit, kritikáit. A lap előfizetési díja egy évre 600 Ft, megrendelhető egyrészt a szerkesztőségnél, másrészt a MKE-nél (1027 Budapest, Fő u. 68.).

On behalf of the Organizing Committee, you are cordially invited to participate on the

10TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PURINES AND PYRIMIDINES IN MAN: BASIC AND CLINICAL ASPECTS

Tel Aviv, Israel, May 14–19, 2000

The venue of the meeting is the Dan Panorama Hotel and Convention Center. The Scientific Program will include plenary lectures, symposia, workshops and poster sessions on the following topics:

1. BIOCHEMISTRY

metabolism • transport • inborn errors

2. PHARMACOLOGY

purine and pyrimidine receptors • agonists and antagonists • signal transduction pathways and second messengers • anticancer and antiviral chemotherapy • other therapeutic uses

3. PHYSIOLOGY

cardioprotection • neuroprotection • renal, pulmonary

South Africa • P. Ipata, Italy • K.A. Jacobson, USA • W. Makarewitz, Poland • W. Michelli, Italy • M.M. Muller, Austria • A. Pelleg, USA • G.J. Peters, Netherlands • J.G. Puig, Spain • S. Reiter, Germany • I. Sebestra, Czech Republic • J.E. Seegmiller, USA • H.A. Simmonds, UK • R. Smolenski, Poland • M. Staub, Hungary • M. Taylor, USA • L.F. Thompson, USA • G. Van Den Berghe, Belgium • G. Weber, USA • Y.S. Zhen, China • N. Zollner, Germany

Symposium Secretariat

10th International Symposium on Purines and Pyrimidines in Man

P.O. Box 50006, Tel Aviv 615000, Israel

tel: +972 3 514 0000, Fax: +972 3 514 0077 or 514 5674,

e-mail: purines@kenes.com

International Advisory Board

L. Belardinelli, USA • J. Barankiewicz, USA • M.A. Becker, USA • R.A. De Abrieu, Netherlands • G.B. Ellion, USA • S. Eriksson, Sweden • A. Giacomello, Italy • W. Gutensohn, Germany • E.H. Harley,

7th SYMPOSIUM OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR THE STUDY OF PURINE AND PYRIMIDINE METABOLISM IN MAN

Organized for ESSPPMM by the Faculty of Biotechnology University of Gdańsk & Medical University of Gdańsk and the Polish Biochemical Society
Gdańsk, Poland, 14–18 September, 1999



We kindly invite you to participate in the 7th ESSPPMM Symposium in Gdańsk, Poland. The ESSPPMM Symposia are the established forum for all European researchers interested in various aspects of purine and pyrimidine metabolism in humans or related to humans. The participation of researchers from overseas is also welcome. The aim is to keep the costs as low as possible to enable the maximum number of young investigators to attend.

These symposia (held every second year) have become a tradition of the European Society for the Study of Purine & Pyrimidine Metabolism in Man with previous meetings being held in Château d'Oex, (Switzerland) 1987; Gut Ising, (Germany), 1989; Bournemouth, (Great Britain) 1991; Nijmegen, (The Netherlands) 1993; Vasto, (Italy) 1995; and Gmunden, (Austria) 1997. We look forward to seeing you in Gdańsk.

SYMPOSIUM ORGANIZING COMMITTEE

• S. Angielski (Gdańsk) • J. Greger (Łódź) • A. Guranowski (Poznań) • K. Kaletha (Gdańsk) • Z. Kazimierzczuk (Warszawa) • T. Kulikowski (Warszawa) • W. Makarewicz (Gdańsk) Chairman • W. Rode (Warszawa) • D. Shugar (Warszawa) • A.C. Skladanowski (Gdańsk) Secretary • R.T. Smolenski (Gdańsk) Deputy Chairman • J. Stepinski (Gdańsk) Treasurer • M. Zydowo (Gdańsk)

ESSPPMM SCIENTIFIC COMMITTEE

• J. Balzarini (Leuven) • R.A. De Abreu (Nijmegen) • S. Eriksson (Uppsala) • B.S. Gathof (Munich) • G. Gerber (Berlin) • A. Giacomello (Chieti) • W. Makarewicz (Gdańsk) • E. Marinello (Siena) • V. Micheli (Siena) • M.M. Müller (Vienna) • G.J. Peters (Amsterdam) • J.D. Puig (Madrid) • F. Roch-Ramel (Lausanne) – Honorary Member • I. Sebesta (Prague) • H.A. Simmonds (London) – Honorary Member • O. Sperling (Tel Aviv) • M. Staub (Budapest) • G. Van den Berghe (Brussels) • N. Zöllner (Munich) – Honorary Member

Scientific Programme

The principal aim of the Symposium is to provide a forum for interdisciplinary discussion of current research in both basic and clinical aspects of purine and pyrimidine metabolism in Man. A particular emphasis is on encouraging participation of young investigators in this developing field. Every effort will be made to ensure a good blend of interests, with metabolism, enzymology, biochemical pathology, receptor signalling & regulation, molecular biology and clinical and therapeutic aspects receiving similar coverage.

The proposed format of the Symposium will involve morning sessions of state of the art lectures, lectures presenting new aspects of purine & pyrimidine metabolism and shorter oral presentations on related topics. There will be afternoon breaks for leisurely discussions, fol-

lowed by poster sessions and workshops on methodology. The language of the conference will be English. An exhibition of laboratory equipment and pharmaceutical products will accompany the Symposium.

The following main topics are considered

- Regulatory functions of purine and pyrimidine compounds
- Purines and pyrimidines in physiology and pathology of the brain
- Tissue specific aspects of purine metabolism
- Purines in reperfusion injury
- Role of purines and pyrimidines in apoptosis (cell death)
- Extracellular metabolism of nucleotides
- Uncommon nucleotides
- Cyclic nucleotide analogs as possible drugs
- Purine and pyrimidine metabolism as a target in the treatment of inflammation
- Purinoreceptors
- Nucleoside & deoxynucleoside kinases – properties and role in metabolism in different cell types
- Therapeutic applications of purine and pyrimidine derivatives in hematology, oncology, rheumatology and neurological disorders
- Purine and pyrimidine derivatives in antiviral therapy
- Molecular biology of enzymes involved in purine and pyrimidine metabolism
- Therapeutic potential of antimetabolites, natural purines & pyrimidines in combination: chemotherapy and radiotherapy
- Purines/pyrimidines in cell growth and differentiation
- Purines/pyrimidines in molecular diagnostics and gene therapy

Workshops

- Analytical methods in study of purine and pyrimidine metabolism
- How to translate cell culture results into in vivo results and subsequently into Man and backwards?
- Purines and pyrimidines on the INTERNET

Important future dates

December 1st, 1998 – Second mailing of Symposium details and final call for papers
March 30th, 1999 – Registration and deadline for submission of abstracts
June 30th, 1999 – Notification of acceptance of papers
September 14th, 1999 – Symposium starts.

Symposium Secretariat

PP'99 • Dr. A.C.Skladanowski • Department of Biochemistry • Medical University of Gdańsk • Debinki 1 • 80-211 Gdańsk • Poland • Tel./fax: +48 58 321 386 • E-mail: p99@amedec.amg.gda.pl



Organisation des Nations Unies pour l'Éducation, la Science et la Culture
United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization.

ICRO International Cell Research Organization
Organisation Internationale de Recherche sur la Cellule

INTERNATIONAL SYMPOSIUM AND TRAINING COURSE ON THE NEWEST IN DEVELOPMENTAL GENETICS

Santiago, Chile • January 11–23, 1999

Sponsors

- International Cell Research Organization (ICRO-UNESCO)
- National Institute of Health (NIH)
- Facultad de Ciencias, Universidad de Chile
- Red Latinoamericana de Ciencias Biológicas (RELAB)

Organizing Committee

INTERNATIONAL:

- Dr. Gerald Schatten (Oregon Health Science University, Oregon, USA), Chairman
Dr. Heiner Westphal (National Institute of Health, Bethesda, USA)

NATIONAL:

- Dr. Roberto Mayor (Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Chile), Chairman
Dr. Miguel Allende (Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Chile)
Dr. Claudio Barros (P. Universidad Católica de Chile, Chile)
Dr. José L. Gómez S. (Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Chile)
Dr. Manuel Kukuljian (ICBM, Universidad de Chile, Chile)

Objectives

During the past two decades developmental biology has been transformed into a very active field of research gaining increasing importance for the biological sciences and for biotechnology. The change has been brought about by the important technical advances, such as gene cloning, gene knockout and confocal microscopy. In addition, powerful new genetic systems, notably zebrafish, have greatly enriched the potentials of molecular genetics. The objectives of this course are to convey to the students state-of-the-art technology in cell and developmental biology. An international assembly of specialists in the field will introduce the students to five of the most informative genetic systems currently in use. These include *Drosophila*, *Xenopus*, Zebrafish, chicken and mouse. The special advantage of each system and its technical demands will be demonstrated in detail.

Invited Speakers

Enrique Amaya (Welcome CRC Institute, Cambridge, UK); Marianne Bronner-Fraser (CALTECH, Pasadena, USA); Igor Dawid (NIH, Bethesda, USA); Scott Fraser

(CALTECH, Pasadena, USA); John Gurdon (Welcome CRC Institute, Cambridge, UK); Juan Modollet (CBM Severo Ochoa, Madrid, Spain); Angela Nieto (Centro Ramón y Cajal, Madrid, Spain); Gerald Schatten (University of Oregon, Oregon, USA); Heiner Westphal (NIH, Bethesda, USA).

National Faculty

Miguel Allende, Juan Fernández, José L. Gómez S., Manuel Kukuljian (U. Chile)
Esteban Rodríguez (U. Austral de Chile)

Language

The official language will be English throughout.

Lectures

Lectures will be open to all registrants. A letter including name, address, institution and country should be sent for registration. Deadline for registration: October 1, 1998.

Practical Course

The practical course will be restricted to 16 students, of which at least 10 will be from outside Chile. No registration fee will be charged and a limited number of fellowships for lodging and travelling will be available. Applicants are strongly urged to obtain travel grants from their own institutions or governments. Applications should be received by: October 1, 1998, and should include the following:

- Name and address,
- Telephone, fax and electronic mail address,
- Bio-data including educational and research experience, and a list of published research papers,
- Other courses and meetings attended during the past five years,
- A statement of reasons for, and benefits from attending the course,
- Letter of recommendation from a senior scientist familiar with the applicant's research,
- Amount of support available and additional resources needed.

Applications and all correspondence should be sent to: Dr. Roberto Mayor · Universidad de Chile · Facultad de Ciencias · Las Palmeras 3452 · Casilla 653 · Santiago, Chile · Phone: (56 2) 678 7351 · Fax: (56 2) 271 2983 · Email: rmayor@abello.dic.uchile.cl

Decision will be made by November 1, 1998, and all the applicants will be informed of the results.