

BIOKÉMIA

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

Szerkesztőbizottság:

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

Felelős szerkesztő:

SZÉKÁCS ANDRÁS

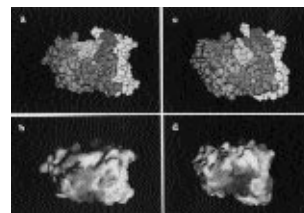
XXIII. ÉVF. 2. SZÁM

1999. JÚNIUS

A tartalomból:

- ◇ Kötőhelyek térszerkezet-vizsgálata számítógépes módszerekkel – IgE antitestek heteroligációja – *Varga M. János*
- ◇ A nehézfém stressz és stresszválasz pontyban – *Ábrahám Magdolna, Hermes Edit, K. Deér Aranka, Banka Lajos és Nemcsók János*
- ◇ Biotechnológia: a szellem már kívül, de megvan-e még a palack? – *Sajgó Mihály*
- ◇ A géntechnológia szerepvállalása a növénynemesítésben: a Pusztai-botrány üzenete – *Dudits Dénes*
- ◇ Nyelvőrző – *Csermely Péter*
- ◇ Az új élet (könyvismertetés) – *Hegedűs Gyöngyvér*
- ◇ Csigafutár – *Csermely Péter*
- ◇ Talajaink védelme egészségünk záloga? (beszámoló egy tudományos ankétról) – *Takács Tünde*
- ◇ Biokémiai és molekuláris biológiai ismeretek a növénykórtanban (könyvismertetés) – *Hornok László*
- ◇ A tudás transzgenikus almája (könyvismertetés) – *Székács András*

Címlapkép: IgE molekulák kötő régiója „felülnézetben”. a: az La2 IgE fehérje F_v doménje [színkód: framework L-lánc (szürke), H-lánc (fehér); CDR peptidek: L-lánc CDR1 (narancs), CDR2 (zöld), CDR3 (kék); H-lánc CDR1 (vörös), CDR2 (bíbor), CDR3 (sárga)]. b: az La2 molekula felületi töltéseloszlása [színkód: bázikus (kék), savas (vörös), aromás (fehér)]. c: az Lb4 antitest CDR struktúrája [színkód: ld. a]. d: az Lb4 antitest töltéseloszlása [színkód: ld. d]. Az ábrát készítette Varga János (ld. a vonatkozó közleményt a 25–33. oldalakon).



Contents:

- ◇ Computer-aided modeling of binding sites – Heteroligation of IgE antibodies – *János M. Varga*
- ◇ Heavy metal stress and stress responses in carp – *Magdolna Ábrahám, Edit Hermes, Aranka K. Deér, Lajos Banka and János Nemcsók*
- ◇ Biotechnology: the djinn is out, but where is the flask? – *Mihály Sajgó*
- ◇ The role of gene technology in plant breeding: the message of the Pusztai scandal – *Dénes Dudits*
- ◇ Language guard – *Péter Csermely*
- ◇ The new life (book review) – *Gyöngyvér Hegedűs*
- ◇ Snail Express – *Péter Csermely*
- ◇ Is the protection of our soils the token to our health? (workshop report) – *Tünde Takács*
- ◇ Biochemistry and molecular biology in plant pathology (book review) – *László Hornok*
- ◇ The transgenic apple of knowledge (book review) – *András Székács*



Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület, 1518 Budapest, Pf. 7.

e-mail: biokemia@nki.hu

<http://korb1.sote.hu/biokemia/biokemia.htm>

Felelős kiadó: Dr. Friedrich Péter

Készült a dART studio gondozásában.

Az engedély száma: III/SZI/397/1977 HU ISSN 0133-8455

Kötőhelyek térszerkezet-vizsgálata számítógépes módszerekkel – IgE antitestek heteroligációja

Computer-aided modeling of binding sites – Heteroligation of IgE antibodies

Varga M. János

Theoretische Chemie Abteilung, Institut für Allgemeine, Anorganische und Theoretische Chemie, Universität Innsbruck, Innrain 52a, A-6020 Innsbruck, Austria

Összefoglalás

Számítógépes homológia modellezés útján két, egérből származó, anti-DNP IgE (F_v) antitest (az La2 és Lb4 klónok) háromdimenziós szerkezetét sikerült feltérképezni. A kötőhelyek és a ligandumok komplexeinek szerkezetét az AutoDock algoritmus segítségével írtuk le, melyben számos, előzetes kötődésvizsgálatban talált DNP-aminosavat és nem DNP vegyületet alkalmaztunk. Eredményeink szerint az La2 klón kötőhelye egy 18 Å hosszú, 12 Å széles és 10 Å mély üreg, melyet több mint tíz aromás (többnyire Tyr) csoport vesz körül a komplementaritást meghatározó régióban (CDR). Az Lb4 kötőhelyet egy 16x15x10 Å méretű, L-alakú üregnek találtuk az F_v fragmentum nehéz és a könnyű láncai között, ahol a különféle DNP és nem DNP ligandumok különböző elhelyezkedéssel kötődtek meg. Az alreceptorokhoz való kötődési hajlam felderítésére ezen komplexek közül néhányat titrálásos mikrokolorimetriás úton, molekulárdinamikai szabadenergia-szimulációkkal, valamint összehasonlító molekulamező-analízissel tovább vizsgáltunk. Az eredmények alátámasztják azt a feltételezést, hogy az antitesteken kombinatorikus ligandum-kötőhelyek találhatók, amelyek nagyszámú, szerkezetileg különböző molekulát képesek megkötni.

Homológia modellezés

A különböző biológiai kötőhelyek számítógépes térszerkezet-vizsgálata a fizikai módszerekkel (pl. röntgen-krisztallográfiával) meghatározott térszerkezetek leképezési és finomítási eljárásaiból nőtte ki magát önálló tudományággá, amely ma már sok

Varga, J. M.

Theoretische Chemie Abteilung, Institut für Allgemeine, Anorganische und Theoretische Chemie, Universität Innsbruck, Innrain 52a, A-6020 Innsbruck, Austria

Summary

Three-dimensional structures of two mouse monoclonal anti-DNP IgE (F_v) antibody molecules (clone La2 and Lb4) were obtained by homology modeling. Binding site-ligand complex structures were constructed by the AutoDock algorithm, using a number of DNP-amino acid derivatives, and non-DNP ligands, found by screening. The La2 binding site is suggested to be a 18 Å long, 12 Å wide and 10 Å deep depression, lined by more than 10 aromatic acid residues (mostly Tyr) of the complementary determining regions. The Lb4 binding site appeared as a 16x15x10 Å L-shaped depression between the H and L chains of the F_v fragment, where the various DNP and non-DNP ligands were found to bind in different orientations. Some of these complexes were further investigated by titration microcalorimetry, molecular dynamics free energy simulations, and comparative molecular field analysis to assess subsite binding preferences. The results are in agreement with the existence of combinatorial-type antibody binding sites to accommodate a great number of structurally different molecules.

esetben egy fehérje aminosav-szekvenciájából önállóan képes a fehérje térszerkezetének többé-kevésbé „élethű” meghatározására. A jelenleg leggyakrabban alkalmazott ún. *homológia modellezés* azon alapul, hogy az egyes biológiai funkciókat végző fehérjék (enzimek, antitestek, receptorok stb.) tér-

szerkezete, közelebből azok doménstruktúrája nagyon hasonló. A homológia modellezés különösen előnyös lehetőségét kínálják az antitestek, amelyek β -barrel (hordó) doménstruktúrája invariábilis és könnyen felismerhető. A kötőhelyek rekonstrukcióját az is megkönnyíti, hogy ezek a nagyszámú (milliós nagyságrendű) különböző antitesteknél ugyanolyan – vagy nagyon hasonló – összesen hat β -hordóvégi peptid-dudor (*Complementary Determining Regions*, röv. CDR, *canonical structures*) különböző kombinációiból adódnak. Ennélfogva egy antitest aminosav-szekvenciája alapján mind a β -hordó, mind az antigén kötőhely CDR kombinációja, és ezáltal a teljes térszerkezet homológia modellezéssel meghatározható [1]. Az antitestek modellezésénél további előnyt jelent az a tény, hogy jelenleg már közel 150 kötetlen antitest, és több mint 80 antitest-ligandum komplex térszerkezete ismert (túlnyomórészt röntgenkrisztallográfiás vizsgálatok alapján), amelyeknek koordinátái az USA brookhaveni Protein Data Bankból (PDB) az Interneten keresztül gyorsan és térítésmentesen letölthetők, és térszerkezetük a számítógép képernyőjén pillanatok alatt megjeleníthető [2].

Előzmények

A 11 éve Innsbruckban elkezdett munka előzményeként említendő az antitestek általános heteroligációjával, és az IgE antitestek nem várt keresztreakcióival kapcsolatos korábbi megfigyeléseink. Egy új szilárdfázis kötési teszt segítségével a hetvenes évek elején a Yale Egyetemen kimutattuk, hogy emberi és egér monoklonális immunoglobulinok nagyszámú, szerkezetileg egészen különböző

ligandum megkötésére képesek [3,4], és hogy ez a „multispecifitás” nemcsak myeloma proteineken, hanem indukált antitesteken is kimutatható. Ezzel magyarázható az a jelenség, hogy ugyanazon B-sejt klón két, szerkezetileg egészen különböző ligandummal (pl. RNáz és dinitro-fenol) keresztstimulálható [5]. Az antitestek általános heteroligációjára vonatkozó hipotézisünk [6] alapján az immunológiai specifitás új paradigmája született meg, amely szerint a kísérletileg megfigyelhető, csaknem abszolút immunspezifitás nem az egyes antitestek abszolút specifitásával, hanem a nagy számok törvénye alapján az antitest molekulák különböző heteroligációs készségével értelmezhető [7]. Bár minden kétséget kizáróan kimutatható volt, hogy ugyanaz a kötőhely legalább két, szerkezetileg különböző ligandumot képes megkötni, ezek a vizsgálatok megválaszolatlanul hagyták azt a kérdést, hogy szerkezetileg nagyon különböző ligandumok kötődése az antitestek kötőhelyén ugyanazon vagy különböző atomcsoportok által történik. Ez fontos, elvi kérdés, mert korábban azt valószínűsítették, hogy két különböző molekula (mint például a DNP és a menadion) kötődéséért ugyanazon kötőcsoportok felelősek. Ha pedig két különböző molekula pontosan ugyanabba a kötőhelybe, ugyanabban az orientációban illeszkedik, nincs szükség semmiféle új „multispecifikus” immunológiai paradigmára [8]. Erre a kérdésre csak kiterjedt térszerkezet-vizsgálatok segítségével adhatunk egyértelmű választ. Mivel a szerkezetkutatás jelenlegi fizikai módszerei (röntgendiffrakció, NMR) nem teszik lehetővé egy kötőhely nagyszámú ligandummal képzett komplexeinek térszerkezet-vizsgálatát, ezért választot-



Varga M. János a Budapesti Műszaki Egyetemen szerzett vegyészmérnöki diplomát (1959); az Eötvös Lóránd Tudomány Egyetemen doktorált (1965, biokémia); a budapesti Gyógynövény Kutató Intézetben és a Gyógyszerkutató Intézetben dolgozott; olasz állami ösztöndíjjal Rómában tanult. Svédországban a Stockholmi Műszaki Egyetemen, az Amerikai Egyesült Államokban a Yale és Berkeley Egyetemeken, Ausztriában az Innsbrucki Egyetemen tanított és dolgozott. A washingtoni Nemzeti Egészségügyi Központ (National Institutes of Health) Molekulárisimmunológiai Programjának volt a direktora. Kutatómunkájának középpontjában a különböző szilárd hordozókon alapuló kötődési tesztek kifejlesztése állt: az uppsalai Pharmacia Gyógyszer-

vegyészeti Gyárban dolgozta ki (1970) a papírkorong hordozón alapuló RAST módszert, amely az *in vitro* allergia diagnosztika egyik legismertebb, általánosan használt tesztje lett; a Yale Egyetemen nylon hordozót használt egy új kötődési teszt kifejlesztéséhez, ez tette lehetővé egy antitest-antigén komplex első térszerkezet-meghatározását (1974); az Innsbrucki Egyetemen fejlesztette ki a polisztirol radioderivatizációs módszerét (1990), amely a kötőhelyek nagyszámú vegyülettel való kötődésvizsgálatát tette lehetővé.

tuk az alább körvonalazott számítógépes megközelítési módszereket.

Az itt közölt munka másik előzményként a klinikai praxisban elsőként alkalmazott *in vitro* allergia diagnosztikai teszt (RAST [9]) kifejlesztésénél tapasztalt, nem várt fals pozitív teszt eredmények említendőek. Ezek a megfigyelések arra utaltak, hogy az emberi szérumban levő egyes IgE molekulák nemcsak egy, hanem több allergén kötésére képesek (különböző erősséggel). A tizenegy éve Innsbruckban elkezdett, IgE antitesteken végzett vizsgálatoktól tehát azt reméltük, hogy a heteroligáció molekuláris vizualizálásával magyarázatot kaphatunk az allergiában általános váratlan allergiás reakciókra (pl. a penicillin első injekciójakor fellépő anafilaxiás reakciókra), valamint a gyakori fals pozitív *in vitro* tesztekre, és egyidejűleg, a sztochasztikus immunológiai paradigmát megerősítendő, vizuális példákkal szolgálhatunk az antitestek heteroligációjára. Az alábbiakban összefoglaljuk az IgE-ligandum komplexek számítógépes térszerkezet-meghatározására irányuló projekt főbb munkafázisait (1. ábra)

1. Anti-DNP monoklonális IgE antitestek heteroligációs kötődési vizsgálata.
2. Az IgE F_v gének klónozása és szekvenálása.
3. Az F_v régiók homológia modellezése.
4. A ligandumok dokkolása.
5. Molekulárdinamikai (MD) szimulációk.
6. A ligandumkötődések ellenőrzése
 - a. számítógépes módszerekkel
 - b. fizikai módszerekkel
 - c. helyirányította mutagenézissel

1. ábra Az IgE antitest kötőhelyek számítógépes térszerkezet-vizsgálatának munkafázisai

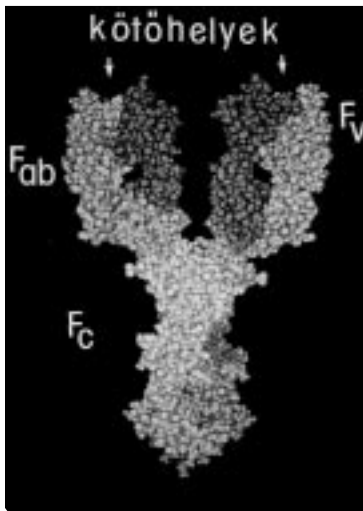
1. Anti-DNP monoklonális IgE antitestek kötődési vizsgálata nagyszámú, nem dinitro-fenil (DNP) szerkezetű molekulával.

Az antitestek sztochasztikus-heteroligációs modellje szerint [7] bármely immunoglobulin (Ig) molekula a rendelkezésre álló ligandum-univerzum (min. 10^{16} különböző, 1000-nél kisebb molekulatömegű

molekulafajta) egy meghatározott hányadát (pl. 0,01%-át) képes megkötni. Mivel a kötődés gyakorisága fordítva arányos a kötési energiával, számítások és korábbi kísérleti eredmények alapján [3] elvárható, hogy bármely Ig molekula egy nem előszelektált, véletlenszerű (random) ligandum-gyűjtemény 1000 tagjából legalább eggyel olyan erős kötésbe lép, amely μM nagyságrendű disszociációs konstanssal ($K_d < 1 \mu\text{M}$) jellemezhető. Tehát ahhoz, hogy pl. egy DNP-hapténnel immunizált egérből kapott monoklonális anti-DNP antitesthez egy $K_d < 1 \mu\text{M}$ -nak megfelelő erősséggel kötődő *non-DNP* molekulát találjunk, egy kb. 1000 vegyületből álló, nem előszelektált molekulagyűjteményt kell vizsgálnunk az immunoglobulinhoz való kötődésre nézve.

A projekt kezdetekor olyan módszer, amellyel a viszonylag kis (pl. gyógyszer-) molekulák ezreinek kötődését lehetett volna vizsgálni, nem állt rendelkezésre. Mivel a klinikai teszteleseket többnyire 96 üreges polisztirol mikrotálcákon és az ezeket kezelő kötő-mosó-detektáló-kiértékelő automatákkal végzik, elhatároztuk, hogy ebben a rendszerben fogunk dolgozni. Ehhez olyan módszerre volt szükség, amellyel a teszt antigén (DNP) a polisztirol felületére kovalens kötéssel rögzíthető. Egy véletlenszerű megfigyelés vezetett ahhoz a felismeréshez, hogy nagyenergiájú, ionizáló (γ) sugárzás hatására aromás vegyületek a polisztirol felszínén kovalens kötéssel megkötődnek, így horgonycsoportként szolgálhatnak más vegyületek felületi rögzítéséhez. Ennek alapján dolgoztuk ki a polisztirol radioderivatizációs módszerét [10], amelyet különböző specifitású (anti-DNP, anti-penicillin stb.) antitestek detektálására, és kompetitív kötés-vizsgálatokra is alkalmazni lehetett [11].

Közbevetőleg és az általános (molekuláris) tájékozódást megkönnyítendő, a 2. ábrán bemutatjuk egy teljes IgE molekula számítógéppel konstruált térszerkezetét. A kb. 200 kD nagyságú, két nehéz (H) és két könnyű (L) láncból álló molekula két azonos F_{ab} (antigén-kötő) és egy F_c fragmentumból áll, amely utóbbi kapcsolódik a mediátor sejtek F_c receptorához. Az F_{ab} fragmentumok N-terminális felét képezik az F_v (variable) fragmentumok, amelyek végein található az antigén- (illetve allergén-) kötőhelyek. Az alábbiakban közölt térszerkezet-vizsgálatokban az F_v fragmentumok antigén-kötő helyeivel foglalkozunk.

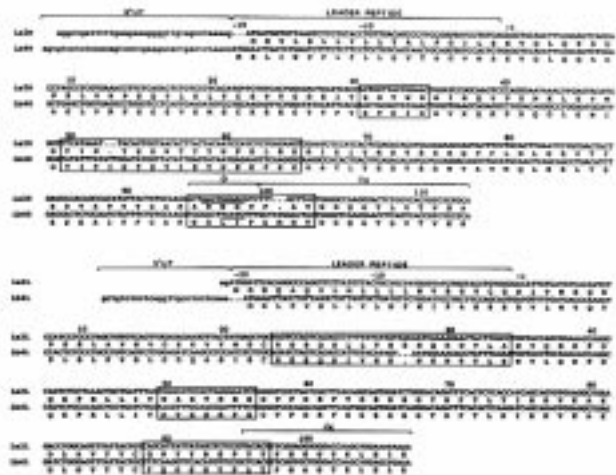


2. ábra Az IgE molekula számítógépes modellje. Az F_{ab} régió sötétebb zónái az L-láncot az F_c régió sötét zónája a szénhidrát oldalláncot jelzik. (Az ábráért Prof. S. Linthicumnak tartozom köszönettel.)

Elsőként egy egerből származó monoklonális anti-DNP IgE antitestet (egér, klón SPE-7) 2074 különböző vegyülettel (többnyire gyógyszerek és származékaik) vizsgálva azt találtuk, hogy ez az IgE molekula a DNP és homológjai mellett még több más molekulacsaládot (tetraciklinek, polymixinek, fenazinok, szalicilátok, különböző kinonok és egyéb vegyületek) képes megkötni, ezen családok némely tagját (lymeciklin, acenaftekinon, furazolidon) az immunizáláshoz használt antigénnel (DNP) azonos nagyságrendű vagy annál erősebb kötési energiával [12]. Ezenkívül még két másik anti-DNP egér IgE molekulán (La2 és Lb4 klónok) végeztük el a kötődésvizsgálatot, ugyanazt a (2074) molekulagyűjteményt használva [13,14]. A kötést tanulmányok összehasonlító vizsgálata azt mutatta, hogy ugyanazon molekulagyűjteményből a három IgE antitest különböző molekulafajtákat „választ ki” komplexképzésre. Így az La2 molekula a DNP-hez hasonló, vagy annál nagyobb energiával köti a 8-amino-kinolint, a cycrimint, a diaszpirint, a hemimellitsavat, a β -naftilamint, a naproxént, az oxolin-savat, a prolóniumot és néhány szteroidot, az Lb4 molekula pedig a DNP-hez hasonló energiával köti a krezolsavat, a fenazopiridint, az *o*-karboxinaftolt stb. Ezek a vizsgálatok tehát megegyeztek a sztochasztikus-heteroligációs modell elvárásaival, de megválaszolatlan maradt az a kérdés, *hogyan kötődnek* ezek a szerkezetileg nagyon különböző molekulák ugyanahhoz a kötőhelyhez.

2. Két anti-DNP IgE klónozása és szekvenálása

A fenti kérdés megválaszolására a kötőhelyek számítógépes modellezésének módszerét választottuk, amelynek kiindulási információja a kötőhelyek aminosav-szekvenciája. E célból a két, előzőleg vizsgált IgE molekulát (La2 és Lb4) cDNA könyvtár alapján klónoztunk, és meghatároztuk az F_v régiók nukleinsav-szekvenciáját [15]. A nukleinsav-szekvenciának megfelelő aminosav-szekvenciából egyértelműen azonosíthatók voltak a β -hordó struktúrát biztosító *framework* láncok és a kötőhelyek CDR peptidjei (3. ábra). Ezek a szekvenciák a további modellezés szempontjából már ebben a stádiumban nagyon ígéretesnek látszottak, mert a kötőhelyet alkotó CDR peptidok egyetlen kivétellel (H3) vagy teljesen azonosak voltak, vagy nagyon hasonlítottak azokhoz a molekulákhoz, amelyek térszerkezete korábbi röntgenkristallográfiai vizsgálatok eredményeként már ismeretes volt.



3. ábra Az IgE La2 és IgE Lb4 nukleinsav-, és az ennek megfelelő aminosav-szekvenciái. H: nehéz lánc, L: könnyű lánc; a CDR peptidek bekeretezve láthatók, és a leader (nem kódoló) szekvenciákat, valamint a V-régió génfragmentumait (D,J) a nukleinsav-szekvencia feletti szögletes zárójel jelzi [15].

3. Az F_v régiók térszerkezetének meghatározása homológia modellezéssel

Az általunk végzett szabad (ligandumot nem tartalmazó) F_v domén számítógépes térszerkezet-vizsgálatának főbb fázisai a következők voltak: a) a legközelebbi homológ *framework* és CDR szekvenciák azonosítása a PDB adatbázisból; b) ennek alapján a kiindulási struktúra összeállítása az ABGEN,

ABALIGN és ABBUILD algoritmusok segítségével; c) a kiindulási modellt pontosítása a CHARMM programmal; d) az energiaminimumnak megfelelő CDR peptidstruktúrák optimális konformációjának meghatározása a CONGEN programmal; e) és végül a térszerkezet leképezése a QUANTA v. 3.3 programmal [16]. A modellezés eredményeképpen két „tipikus” Ig F_v domain állt elő, de nagyon egyedi kötőhely-topográfiákkal és sajátos felületi töltéeloszlásokkal (4. ábra a címlapon). Különösen az La2 antitest kötőhelye szokatlanul nagyszámú aromás aminosavat (2-fenil-alanint, 3-triptofánt és 11-tirozint) tartalmazott. A ligandum kötődéssel együtt járó UV spektrumváltozásokból arra lehetett következtetni, hogy a kötőhelyek aromás csoportjai jelentős szerepet játszanak az F_v-ligandum komplexek képződésében és stabilitásában.

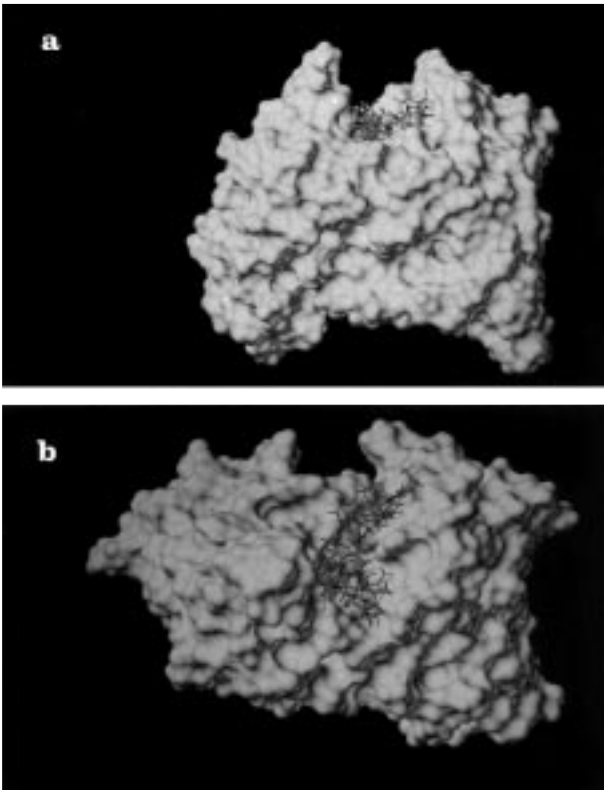
4. ábra (lásd a címlapon) IgE molekulák kötő régiója „felülnézetben” (ugyanabban az orientációban, mint a 2. ábra nyílal jelzett kötőhelyei). a: az La2 IgE fehérje F_v doménje [színkód: framework L-lánc (szürke), H-lánc (fehér); CDR peptidiek: L-lánc CDR1 (narancs), CDR2 (zöld), CDR3 (kék); H-lánc CDR1 (vörös), CDR2 (bíbor), CDR3 (sárga)]. b: az La2 molekula felületi töltéeloszlása [színkód: bázikus (kék), savas (vörös), aromás (fehér)]. c: az Lb4 antitest CDR struktúrája [színkód: ld. a]. d: az Lb4 antitest töltéeloszlása [színkód: ld. d]. Az ábrát készítette Varga János (ld. a vonatkozó közleményt a 25–33. oldalakon).

4. A ligandumok automatikus dokkolása

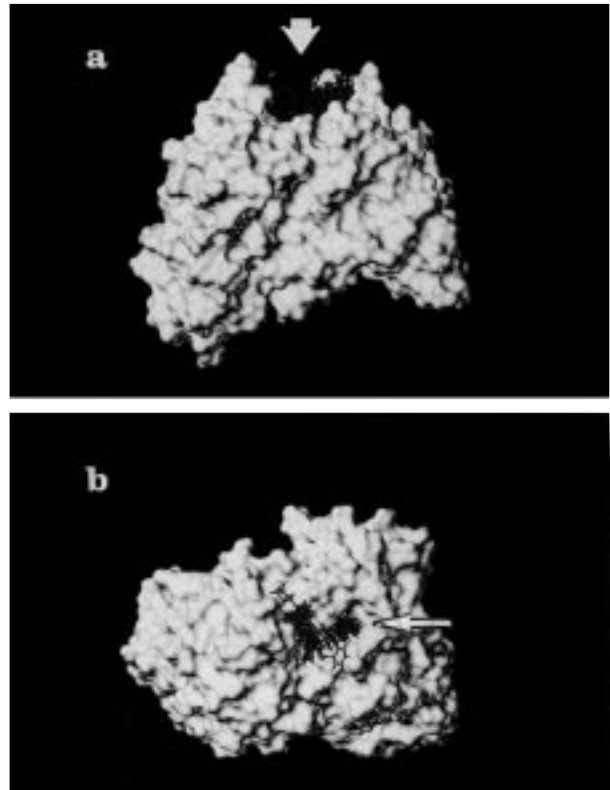
Az antitest homológia modellezéssel kapott leképezését követően az antitest-ligandum komplexek térszerkezete különböző számítógépes automatikus dokkolási (*simulated annealing*) módszerekkel közelíthető meg [17]. Az AutoDock program lényege az, hogy az antitest kötőhelyének felületén a számítógép a (kötődésvizsgálattal kapott) ligandumokat automatikusan „szabad sétára” (*random walk*) készíti, és az így kapott nagyszámú (10–100 millió nagyságrendű) szimulált ligandum-antitest komplexből egy alakzatfelismerő (*pattern-recognition*) algoritmus segítségével kiválasztja azokat a változatokat, amelyek becsült kötési szabadenergiája (a ΔG_{\min} értékének megfelelő dokkolási energia) a legkisebb.

A fenti munkák eredményeként tehát rendelkezésünkre állt két antitest kötőhely topográfiája, és mindkettőhöz kb. 10 nem-DNP struktúra, amelyek hasonló erősséggel kötődtek ($K_d \leq 1 \mu\text{M}$), valamint a DNP különböző (kb. 20) aminosav-származéka. Az általunk választott AutoDock program Metropolis-Monte Carlo algoritmust használ a minimális kötési energiájú ligandum-pozíciók, -orientációk és -konformációk meghatározására. Az AutoDock program megbízhatóságát egy előzőleg röntgenkristallográfiás és NMR spektroszkópiás úton mások által meghatározott antitest-antigen komplexen (ANO2) teszteltük. Eredmény: az AutoDock módszer a kísérletileg meghatározott antitest-ligandum komplex térszerkezetét 0,31–0,44 Å pontossággal (a röntgenkristallográfiára jellemző megbízhatósággal) reprodukálta [13].

Miután az AutoDock program megbízhatóságáról meggyőződünk, az La2 kötőhelyhez dokkoltuk az összes kötődésvizsgálattal kapott nagyobb affinitású ($K_d = 0,2 - 22 \mu\text{M}$) nem-DNP ligandumot (13 különböző molekulát), és 17 DNP-aminosavat ($K_d = 1,5 - 55 \mu\text{M}$) [13]. A kötőhely általános szemléltetésére a számítógéppel produkált komplexeket egybevetítve mutatja be az 5. ábra. Az AutoDock szimulációk a 30 ligandum kötődését egy, a H- és L-láncok közötti kb. 10 Å mély üreg 12–18 Å² nagyságú területén valószínűsítették. A mélyedés falain 5 tirozin (H33, L32, L91, L92, L96) fenol oldallánca felelős az összes kötőhely-ligandum érintkezések 53,4%-áért. A kötőhelyhez kapcsolt (dokkolt) vegyületeket a kötőhelyen elfoglalt pozíciójuk szerint három csoportba sorolhatjuk: a) a dinitro-fenol, a hemimellitsav, a karboxi-naftol és a naproxén egy, az L-lánc CDR2 és CDR3 peptidjei, valamint a H-lánc CDR1 és CDR3 peptidjei által körülhatárolt „zsebben”; b) a DNP-Asn, az oxolinsav, a 8-aminokinolin és az (alifás!) prolónium-I egy, az L-lánc CDR1 és CDR3 valamint a H-lánc CDR2 peptidjei által körülhatárolt zsebben voltak lokalizálhatók, míg c) nagyobb molekulák, mint pl. a diaszpirin és a cyrimin mindkét zsebet és a zsebek közti teret is átfedték. A kötési energiák nagy részét Van der Waals erők, aromás kölcsönhatások és hidrogénhidkötések biztosították. Bár a legtöbb molekula savas vagy bázikus csoportot is tartalmazott, igazi (+)(-) sóhidat egy esetben sem találtunk [13].

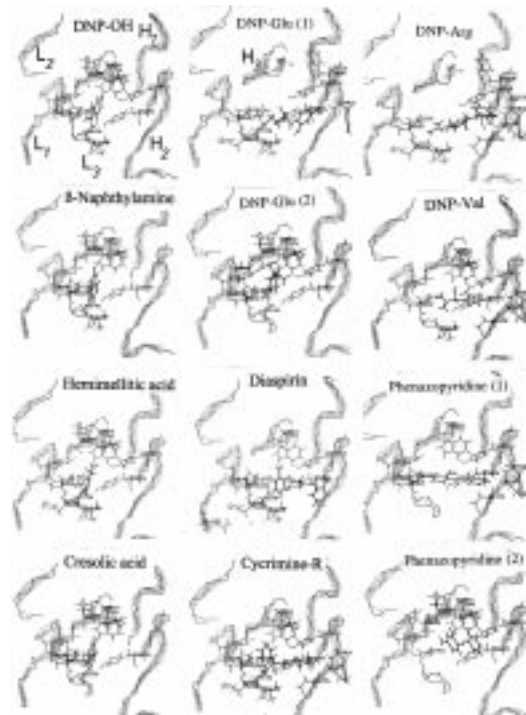


5. ábra Az La2 molekula kötő régiója több, egymásra vetített ligandummal. a: oldalnézet; b: felülnézet [13].



6. ábra Az Lb4 molekula kötő régiója több, egymásra vetített ligandummal. a: oldalnézet, b: felülnézet. A kötő régió helyét nyíl jelzi [14].

Az Lb4 antitest kötőhelyéhez összesen 10 nem-DNP ligandumot ($K_d = 0,2 - 21 \mu\text{M}$), és 17 DNP-aminosavat ($K_d = 4,5 - 47 \mu\text{M}$) dokkoltunk [14]. A 27 különböző molekula egymásra vetített kötődését szemlélteti a 6. ábra. Valamennyi ligandum egy, a H- és L-láncok közötti, $15 \times 16 \times 10 \text{ \AA}$ nagyságú, L-alakú mélyedésben volt található. A ligandumok egy része (dinitro-fenol, naftil-amin, hemimellitsav, krezolsav) az L- és H-domén érintkezési síkjával megegyező, míg más vegyületek (DNP-Glu, diaszpirin, cycrimin) erre merőleges orientációban kötődtek (7. ábra). Valamennyi ligandumnál megfigyelhetők voltak különböző orientáltságú kötődések (lásd DNP-Glu). Figyelemre méltó az a megfigyelés is, amely szerint egyes savas (hemimellitsav, krezolsav) és bázikus (β -naftil-amin) ligandum molekulák szintén ugyanabba a zsebbe kötődtek hasonló orientációban, és hogy például a DNP-Arg és a DNP-Glu bázikus és savas oldalláncai szintén ugyanabban az L CDR3 peptid által körülhatárolt aromás csoportokat tartalmazó, hidrofób zsebben helyezkednek el.



7. ábra Különböző ligandumok egyedi kötődése (vastagított vonallal bejelölve) a szalagdiagrammal ábrázolt Lb4 molekula kötőhelyéhez. A CDR peptidok azonosítása a 4. ábrán látható [14].

5. A dokkolással valószínűsített kötőhelyek ellenőrzése molekulárdinamikai (MD) szimulációkkal

Mind a homológia modellezés, mind a dokkolás statikus, vákuumban modellezett kötőhelyet produkál. A természetes állapot megközelítésének fontos lépése a protein-ligandum komplex (komputeres) szolvatációja, és a kölcsönhatások dinamikájának időbeli (fsec \rightarrow nsec) vizsgálata különböző molekulárdinamikai (MD) szimulációs módszerekkel [17]. A dokkolások a legtöbb ligandum esetében különböző alreceptorokhoz (*subsíte*) való kötődést valószínűsítnek. Így például a DNP-Gly, a DNP-Ala és a DNP-Ser dokkolása az Lb4 kötőhely két különböző régiójához való kötődését valószínűsítette. A különböző alternatív kötődések közötti preferenciát MD szimuláció és titrálásos mikrokalorimetriával végzett összehasonlító vizsgálatokkal ellenőriztük. A ΔG° értékek számítógépes meghatározása végett az Lb4 F_v domént számítógéppel szolvatáltuk, majd MD szimulációval a rendszert egyensúlyba hoztuk, és a ligandumok kötődését egy $68 \times 65 \times 56$ Å méretű „dobozban”, 6100 vízmolekula jelenlétében követtük (90 psec) [18]. A kötetlen ligandumok és ligandum- F_v komplexek számított zárt termodinamikusan *mutációs komplexei* lehetőséget adtak a ΔG° értékek pontos meghatározására (*thermodynamic cycle approach*). A számítással kapott ΔG° értékek jó megegyezésben voltak a mikrokalorimetriával mért értékekkel. Ezen összehasonlító vizsgálatok alapján a dokkolással kapott egyik kötődési orientáció fizikailag lehetetlennek, a másik nagyon valószínűnek látszott [18].

6. A számított ligandum kötődések „hitelesítése”

a) *CoMFA*. A dokkolással kapott komplexek térszerkezetét az Lb4 antitest esetében összehasonlító molekulamező-analízissel (*Comparative Molecular Field Analysis*, *CoMFA*) tovább vizsgáltuk [19]. Háromdimenziós kvantitatív szerkezet-hatás összefüggés (*3D Quantitative Structure-Activity Relationships*, *3D-QSAR*) meghatározásokat végeztünk valamennyi, előzőleg dokkolt ligandumon. Az így kapott ΔG_{\min} , és az ennek megfelelő K_a értékek jó megegyezésben voltak a fizikai módszerekkel mért értékekkel. Megegyezésben az AutoDock eredményekkel, a *CoMFA* számítások megerősítették, hogy a H-lánc Tyr50, Tyr52 és Trp95 oldalláncai fontos szerepet játszanak a ligandum komplexek stabilizálásában.

b) *A számítógépes térszerkezet-vizsgálatok valószínűsítése helyirányította mutagenézissel*. A dokkolás és MD szimulációk alapján tehát valószínűsíteni lehetett, mely CDR peptid melyik aminosavja érintkezik a különböző ligandumokkal. Az La2 antitest esetében például megjósolható volt, hogy a különböző ligandumok az L-lánc Tyr27, Tyr32, Tyr91, Tyr92, Tyr96 csoportjaihoz, valamint a H-lánc Trp34 és Trp97 aromás oldalláncjaihoz kötődnek. Ha ezeket az aminosavakat egyenként valamilyen nem aromás (pl. Ala) aminosavra cseréljük (tehát az érintkezésért felelős aromás oldalláncokat eltávolítjuk), akkor ennek a kötőhelyen bekövetkező „mutáció”-nak jelentős, fizikailag mérhető kötési energiaváltozásban kell megmutatkoznia. A fent felsorolt aminosavakat az oligonukleotid helyirányította mutagenézis módszerével [20] alaninra cseréltük. Az így kapott mutánsok expresszióját és a kötési energiák meghatározását még nem fejeztük be.

c) *Ligandum-indukált térszerkezet-változások vizsgálata számítógépes módszerekkel*. Az antitesteknek az antigén kötődésekor fellépő konformációváltozásai fontos szerepet játszhatnak a humorális immunválasz molekuláris folyamatában, de ez a kérdés még ma is vita tárgyát képezi [2]. Egy amerikai kutatócsoport például röntgenkristallográfiás vizsgálatokkal kimutatta, hogy egy mesterséges édesítőszer kötő antitest térszerkezete egészen más kötetlen, mint komplexált formában [21]. Lokális, kötőhelyi változásokon túlmenően, jelentős doménmozgásokat (nagyobb, mint 30° *elbow-angle movement*) találtak az F_{ab} régióban, amiből arra következtettek, hogy ezek a térszerkezet-változások közvetlenül az F_c receptorhoz vezetnek, és ezáltal fontos szerepet játszhatnak a antigénnel indukált jeltovábbításban, szignál-transzdukcióban. Ezt a hipotézist mások [22] megkérdőjelezték, mert szerintük ilyen nagymértékű elmozdulások sokkal valószínűbb alternatív magyarázata az lehet, hogy a szerkezetváltozásokat nem a ligandum, hanem a kristályszerkezet *packing*-effektusai indukálták – vagyis hogy a nagymértékű térszerkezet-változás műhiba volt. Ezt a jelenséget MD szimulációval (0 - 700 psec) tanulmányoztuk, és azt találtuk, hogy a Guddat és *mtsai* által kimutatott ligandum-indukált doménmozgások [21] kristályszerkezet nélkül, a MD szimuláció során, szolvatált közegben is fellépnek, tehát nem kizárt, hogy a konformációváltozás szerepet játszik a jeltovábbításban [23].

A számítógépes térszerkezet-vizsgálatok jelentősége

a) Az IgE antitestek heteroligációjának lehetséges következményei. Csupán az Amerikai Egyesült Államokban betegek ezrei halnak meg évente penicillin anafilaxisban, amikor a gyanútlan orvos a fertőzött betegnek penicillin injekciót ad. Ez a percek alatt bekövetkező, végzetes reakció akkor is felléphet, ha a beteg előzőleg penicillinkezelést nem kapott. Az allergia szakkönyvei ezeket az eseteket általában azzal magyarázzák, hogy a beteg – például penicillinnel kezelt húst fogyasztva – *előszenszítizálódott*. Bár kísérletes vizsgálatok kimutatták, hogy az állati termékekben tapasztalható penicillinszint nem elegendő a beteg szenzítizálásához, továbbá az is bizonyított, hogy az ilyen „első reakciók” penicillinnel már akkor is gyakoriak voltak, amikor penicillint állatok megvédésére még nem használtak, ennek ellenére, tovább tartja magát az a vélemény, hogy a penicillin anafilaxisban elhunyt betegeknek valamiképpen penicillinnel előzetesen szenzítizálódniuk *kellett*. Az itt közölt eredmények arra engednek következtetni, hogy egyazon IgE molekula két egészen különböző molekulát képes megkötni a kötőhely különböző érintkezési pontjain. Az IgE heteroligáció biológiai szerepét valószínűsítik azok a megfigyelések is, amelyek szerint különböző monoklonális anti-DNP-IgE komplexszel szenzítizált mediátorsejtek nemcsak a DNP-vel, hanem szerkezetileg egészen különböző kis molekulákkal [24] és protein allergénekkal [25] is keresztstimulálhatók. Lehetséges tehát, hogy a penicillin anafilaxisban elhunyt beteg nem penicillinnel, hanem valami más gyógyszerrel vagy allergénnel volt előszenszítizálva. Ezen heteroligációk következtében fellépő „váratlan” keresztreakciók a közismert többszörös allergiákat (*multiple allergies*), és az *in vitro* allergiás tesztek [9] fals pozitív eredményeit is megmagyarázhatják.

b) A sztochasztikus-heteroligációs immunparadigma. A máig is érvényben levő, több mint 40 éves immunparadigma (abszolút Ig-specifitáson alapuló klonális B-sejt szelekció) ellentmondásai ma már egészen nyilvánvalóak [26]. Bár a hetvenes évek közepén javasolt „multispecifikus” modell [5-7] a nyolcvanas években a tankönyvekben is napvilágot látott [27], a napjainkban uralkodó immunológiai gondolkodást ismét a landsteineri kötőhely *homoligációs* víziója, és a („*strict*”) klónszelekció hipotézise dominálja [28]. Ezzel a kérdéssel részletesen most nem foglalkozhatunk, csupán annyit érdemes

megjegyezni, hogy a sztochasztikus-heteroligációs modell húsz évvel ezelőtti elutasításában [8] nagy szerepet játszott az a tény, hogy a heteroligáció vizuálisan abban az időben elképzelhetetlen volt. Az itt vázolt tanulmányok a korábban javasolt [6,7] kombinatorikus ligandum kötődés mechanizmusát valószínűsítik. Az új immunparadigma, az autonóm *self-referential* (önmagára vonatkoztatott) immunrendszer [26] egyik legfontosabb molekuláris aspektusa az antitestek heteroligációja, amely lehetővé teszi, hogy egy *self-reactive* (a test saját komponensét kötő, de nem szükségképpen idiotípusos antitestekre „specializált”) kötőhely a külvilág valamely más ligandumával is kapcsolatba lépjen, és ezáltal egy (egyáltalán nem „szűz”) B-sejt klónt keresztstimulálva beindítsa a patogén eliminálását célzó „specifikus” immunválaszt.

c) Gyógyszerkutatás. Mind az immunválasz, mind a gyógyszerhatás „közös nevezője” az, hogy valamely biológiailag kulcsfunkciót betöltő kötőhelyen egy *endogén* ligandum kötődése legalább egy *exogén* ligandummal *imitálható* (lásd például az endorfin - morfin esetét). A molekuláris imitáció lényege különböző ligandumok ugyanazon kötőhelyen való heteroligációja. A modern gyógyszerkutatás új keletű irányváltását jelenti a *homoligáción* alapuló kutatásról a *heteroligációra* való áttérés, amely korábbi gyógyszer-molekulákat (pl. inzulin) imitáló – hasonló hatású, de más penetrációs és allergiás tulajdonságú –, egészen más szerkezetű anyagokat produkál. Az új irányvonal lényege a cél-kötőhely kötődésvizsgálata nagyszámú, egészen különböző szerkezetű molekulákkal. Az itt közölt térszerkezet-vizsgálatok kiindulási pontját néhány ezer különböző, többnyire aromás molekula experimentális kötőhelyvizsgálata képezte. Jelenleg már sokkal nagyobb kapacitású módszerek léteznek, amelyekkel a peptidek és egyéb vegyületek százazrei gyorsan vizsgálhatók. De nincs túl messze az az idő sem, amikor akár a molekulák kötődésvizsgálatai is számítógép által *ab initio* elvégezhetőek lesznek. Ehhez az szükséges, hogy a jelenleg dokkolással kapott irreálisan magas dokkolási energiák helyett reális kötésienergiák legyenek számíthatók. Megjósolható, hogy a gyógyszerkutatást egyre inkább a számítógépes adatfeldolgozás (szerkezeti bioinformatika), és nem a laboratóriumban, anyagokkal végzett kísérleti munka fogja jellemezni. Jelenleg a számítógépes kötőhely térszerkezet-vizsgálatok nagykorúsításának stádiumában vagyunk, amikor az egyik legfontosabb feladat az, hogy a számítógép-

pel előállított térszerkezetek megbízhatóságát fizikai (röntgen-kristallográfia, NMR) és kémiai (helyirányította mutagenézis) vizsgálatokkal ellenőrizzük [29].

Köszönetnyilvánítás

A számítógépes munkákat az Innsbrucki Egyetem Elméleti Kémia Tanszékének munkatársai, Prof. Klaus Liedl, Dr. Cristoph Sotriffer, Magister Rudolph Winger, Magister Armin Gamper, Magister Wolfgang Flader és Prof. Berndt Rode végezték; közreműködött még Prof. Scott Linthicum munkacsoportja a Texasi A&M Egyetemen, és Prof. Alan Cooper munkacsoportja a Glasgovi Egyetemen. A projektet az Osztrák Nemzeti Kutatási Alapítvány (Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung) és az Epipharm Co (Linz) támogatta.

Irodalomjegyzék

- [1] Bolger M.B., Sherman M.A. (1991) Computer modeling of combining site structure of anti-hapten monoclonal antibodies. *Meth. Enzymol.*, **203**: 21-45.
- [2] Padlan, E.A. (1996) X-Ray crystallography of antibodies. *Adv. Protein Chem.*, **49**: 57-133.
- [3] Varga, J.M., Lande, S., Richards, F.F. (1974) Immunoglobulins with multiple binding functions II. The use of nylon-polyserine whisker discs in screening myeloma immunoglobulins for binding activity. *J. Immunol.*, **112**: 1565-1570.
- [4] Amzel, L.M., Poljak, R.J., Saul, F., Varga, J.M., Richards, F.F. (1974) The three dimensional structure of a crystalline antibody-antigen complex at 3Å resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**: 1427-1430.
- [5] Varga, J.M., Konigsberg, W.H., Richards, F.F. (1973) Antibodies with multiple binding functions I. Induction of single immunoglobulin species by structurally dissimilar haptens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**: 3269-3274.
- [6] Richards, F.F., Konigsberg, W.H., Rosenstein, R.W., Varga, J.M. (1975) On the specificity of antibodies. *Science*, **187**: 130-137.
- [7] Inman, J.K. (1978) The antibody combining region: Speculations on the hypothesis of general multispecificity. In: *Theoretical Immunology* (G.I. Bell, Ed.) Marcel Dekker, New York, 1978. pp. 243-278.
- [8] Kabat, E.A. (1978) The structural basis of antibody complementarity. *Adv. Protein Chem.*, **32**: 1-12.
- [9] Ceska, M., Erikson, R., Varga, J.M. (1972) Radioimmunosorbent Assay of Allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **49**: 1-9.
- [10] Varga, J.M., Fritsch, P. (1990) Immobilization of small molecules and proteins by radio-derivatized polystyrene. *FASEB J.*, **4**: 2671-2677.
- [11] Varga, J.M., Klein, G.F., Fritsch, P. (1990) Binding of a mouse monoclonal IgE (anti-DNP) antibody to radio-derivatized polystyrene-DNP complexes. *Ibid.*, 2678-2683.
- [12] Varga, J.M., Kalchschmid, G., Klein, G.F., Fritsch, P. (1991) Mechanism of allergic cross-reactions - I. Multispecific binding of ligands to a mouse monoclonal anti-DNP IgE antibody. *Mol. Immunol.*, **28**: 641-654.
- [13] Sotriffer, C.A., Liedl, K.R., Winger, R.H., Gamper, A.M., Kroemer, R.T., Linthicum, D.S., Rode, B.M., Varga, J.M. (1996) Heterologation of a mouse monoclonal IgE antibody (La2) with small molecules, analysed by computer-aided automated docking. *Mol. Immunol.*, **33**: 129-144.
- [14] Winger, R.H., Liedl, K.R., Sotriffer, C.A., Gamper, A.M., Rode, B.M., Keoemer, R.T., Varga, J.M. (1996) Prediction of IgE(Lb4)-Ligand complex structures by automated docking. *J. Molec. Recognition*, **9**: 239-246.
- [15] Kofler, H., Schnegg, I., Geley, S., Helmberg, A., Varga, J.M., Kofler, R. (1992) Mechanism of allergic cross-reactions - III. CDNA cloning and variable-region sequence analysis of two IgE antibodies specific for trinitrophenyl. *Mol. Immunol.*, **29**: 161-166.
- [16] Droupadi, P.R., Varga, J.M., Linthicum, D.S. (1994) Mechanism of allergic cross-reactions - IV. Evidence for participation of aromatic residues in the ligand binding site of two multispecific IgE monoclonal antibodies. *Mol. Immunol.*, **31**: 537-548.
- [17] Sotriffer, C.A., Flader, W., Winger, R.H., Rode, B.M., Liedl, K.R., Varga, J.M. Automated docking of ligands to antibodies: methods and applications. *METHODS: A Companion to Methods in Enzymology* (1999, közlés alatt)
- [18] Sotriffer, C.A., Flader, W., Cooper, A., Rode, B.M., Linthicum, D.S., Liedl, K.R., Varga, J.M. (1999) Ligand-binding by antibody IgE Lb4: assessment of binding site preferences using microcalorimetry, docking, and free energy simulations. *Biophysical Journal* (közlés alatt)
- [19] Gamper, A.M., Winger, R.H., Liedl, K.R., Sotriffer, C.A., Varga, J.M., Kroemer, R.T., B.M. Rode (1996) Comparative Molecular Field Analysis of haptens docked to the multispecific antibody IgE(Lb4) *J. Med. Chem.*, **39**: 3882-3888.
- [20] Deng, W.P., Nickoloff, J.A. (1992) Site-directed mutagenesis of virtually any plasmid by eliminating a unique site. *Anal. Biochem.*, **200**: 81-88.
- [21] Guddat, L.W., Shan, L., Fan, Z.C., Andersen, K.N., Rosauer, L., Linthicum, D.S., Edmundson, A.B. (1995) Intramolecular signaling. *FASEB J.*, **9**: 101-106.
- [22] Wilson, I.A., Stanfield, R.L. (1994) Antigen-antibody interactions: new structures and new conformational changes. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **4**: 857-867.
- [23] Sotriffer, C.A., Liedl, K.R., Linthicum, D.S., Rode, B.M., Varga, J.M. (1998) Ligand-induced domain movement in an antibody F_{ab}: MD studies confirm the unique domain movement observed experimentally for F_{ab} NC6.8 upon complexation and reveal its segmental flexibility. *J. Mol. Biol.*, **278**: 301-306.
- [24] Varga, J.M., Kalchschmid, G., Klein, G.F., Fritsch, P. (1991) Mechanism of allergic cross-reactions - III. Cross-stimulation, by chemically unrelated ligands, of basiphilic leukemia cells sensitized with an anti-DNP IgE. *Mol. Immunol.*, **28**: 655-659.
- [25] Varga, J.M., Kalchschmied, G., Bellon, B., Kuhn, J., Druet, P., Fritsch, P. (1995) Mechanism of allergic cross-reactions - V. High incidence of unanticipated cross-stimulation by natural allergens of RBL cells sensitized with monoclonal IgE antibodies. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **108**: 196-199.
- [26] Coutinho, A., Forni, L., Holmberg, D., Ivars, F., Vaz, N. (1984) From an antigen-centered, clonal perspective of immune responses to an organism-centered, network perspective of autonomous activity in a self-referential immune system. *Immunol. Rev.*, **79**: 151-179.
- [27] Hood, L.E., Weissman, I.L., Wood, W.B., Wilson, J.H. (1984) Immunology. Benjamin/Cummings Co., Menlo Park, CA, pp. 24-30.
- [28] Kuby, J. (1994) Immunology. Freeman and C. New York, pp.16-102.
- [29] Bajorath, J., Sheriff, S. (1996) Comparison of an antibody model with an X-ray structure: the variable fragment of BR96. *PROTEINS: Structure, function and genetics*, **24**: 152-157.

A nehézfém stressz és stresszválasz pontyban

Heavy metal stress and stress responses in carp

Ábrahám Magdolna, Hermeszt Edit, K. Deér Aranka, Banka Lajos és Nemcsók János

József Attila Tudományegyetem, Biokémiai Tanszék, 6726 Szeged, Középfasor 52.

Összefoglalás

Alacsony kadmium expozíció esetén a ponty citokróm P450-függő EROD és ECOD enzimeinek aktivitását fokozza, míg a CYP1A gének indukciójának látszólagos gátlását eredményezi. Feltételezhetően a nehézfém és az ER membrán kölcsönhatásán kívül a lipidperoxidáció következtében változik a citokróm P450 enzimek mikrokörnyezete, amely a fehérjék konformációjának változását és ennek megfelelően a katalitikus aktivitás növekedését okozza. A vizsgált biotranszformációs enzimek denaturálódással szembeni védelméhez hozzájárulhatnak a stresszfehérjék. A metallotionein szint enyhe növekedése a kadmium toxicitással szemben nem, vagy csak korlátozott védelmet nyújt. Az alacsony dózisú kadmium hatás potenciálja a kész CYP1A enzimek biotranszformációs aktivitásának fokozódását, de növekvő expozíció esetén várható, hogy érzékenyebbé teszi a halakat a poliaromás vegyületekkel szemben, mivel gátolhatja az adaptív stresszválaszt.

M. Ábrahám, E. Hermeszt, A. K. Deér, L. Banka, J. Nemcsók

József Attila Tudományegyetem, Biokémiai Tanszék, 6726 Szeged, Középfasor 52.

Summary

The complex biochemical stress responses to cadmium exposure were studied in liver of carp (*Cyprinus carpio*). Cd²⁺ injection in sublethal concentration resulted in increased hepatic microsomal activities of EROD and ECOD, two CYP1A enzymes. Oxidative stress caused by the heavy metal was supposed to modify the ER membrane structure surrounding the cytochrome P450 enzymes, however the interactions existing between the proteins and membrane lipids preserved the enzymes from denaturation. The induction of hsp70 and hsp90 genes by Cd²⁺ was found and the stress proteins may contribute to the protection of the cytochrome enzymes. The induction of CYP1A genes seems to be inhibited by metal ions and it could be related to the free ions interacting with cell proteins.

A környezeti stressz és a celluláris stresszválasz

A vízi környezet stresszhatásai az élőlényekben komplex celluláris reakciókat váltanak ki. A halak bőrrükkel, kopoltyújukkal állandó és szoros kapcsolatban vannak a vízzel, illetve a vízben lévő toxikus vegyületekkel, s ezáltal közvetlenül, illetve közvetve, a táplálkozásuk révén felhalmozhatják testükben az idegen anyagokat. Minden élőlény, így a halak szervezete is rendelkezik olyan, meglehetősen konzervált, molekuláris védelmet szolgáló fehérje rendszerekkel, amelyek metabolizálják vagy eliminálják az idegen vegyületeket. Közülük a nehézfémeket kötő metallotioneinek és a xenobiotikumokat átalakító citokróm P450-függő monooxigenázokat kell kiemelnünk. A különböző halfajok-

ban végbemenő specifikus reakciókról, a részt vevő enzimek és fehérjék szerkezetéről és működéséről számos irodalmi adat áll rendelkezésre, azonban kevésbé ismert egy-egy vegyület komplex biokémiai hatása, amely végső soron az élőlények adaptációs képességét befolyásolja. Ezen alapkérdésből kiindulva vizsgáltuk, hogy a szubletális koncentrációban jelen lévő kadmium hogyan befolyásolja a ponty stresszhatásokkal szembeni védelmét ellátó enzimek és fehérjék működését.

A kadmium és citokróm P4501A izoenzimek kölcsönhatása

A kadmium az egyik legtoxikusabb hatású nehézfém, amely a sejtekben a fehérjék aminosav oldaláncaín, szulfhidril- és anionos csoportokhoz kötődve denaturációt okoz, vagy metallotioneinekhez

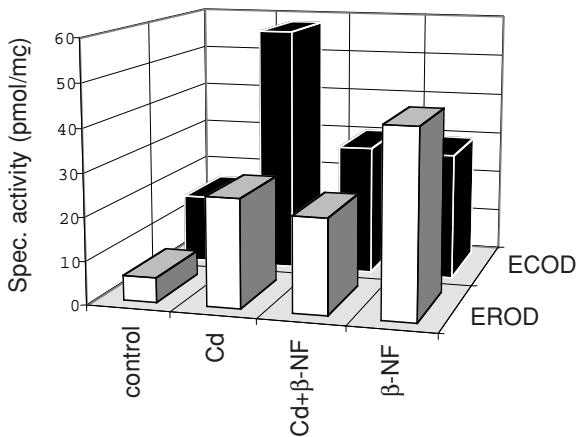
kapcsolódva felhalmozódik, s lassan ürül a szervezetből. Természetes úton a Cd(II) ionok a vízi környezetbe csak adott geológiai feltételek következtében kerülnek, s koncentrációjuk viszonylag alacsony. A folyamatos expozíció vagy a környezeti feltételek változása következtében az élőlényekben a fém akkumulálódik. A kadmium-fehérje kölcsönhatást a pontymáj citokróm P450-függő monooxigenáz rendszerén vizsgáltuk, mivel a xenobiotikumok biotranszformációját katalizáló enzimek részei a szervezet molekuláris védelelmét szolgáló és adaptációjában szerepet játszó rendszereknek. A citokróm P450 enzimek az ER membránjában lokalizálódó monooxigenázok, amelyek a lipofil szubsztátokat alakítják vízoldékonyabb formává, majd közvetlenül vagy további átalakítás után kiválasztásra kerülnek. A széles, átfedő szubsztát specifikussal rendelkező citokróm P450-függő monooxigenázok emlősökben a génjeik specifikus induktorokkal való indukálhatósága alapján öt géncsaládba sorolhatók. A halak máj- és veseszövetekben egyértelműen a poliaromás vegyületek biotranszformációját katalizáló CYP1A géncsalád izoenzimeit indukálhatók. Újabban pisztrángban kimutatták, hogy β -naftoflavonnal (BNF) – amely egyébként specifikus CYP1A induktor – a CYP2K géncsalád is indukálódik [1]. A CYP1A géneket a specifikus induktorokon kívül maguk a szubsztátok is aktiválják. A citokróm P450 enzimeket kódoló gének expressziójának szabályozása receptorhoz kötött, az inaktív receptor a hsp90 stresszfehérjével asszociál, amely a ligand megkötésekor leválik a komplexről [2]. Az Ah (*aryl hydrocarbon*) receptorfehérje a citoplazmában megköti a lipofil szubsztátot, s a ligand-aktivált receptor komplex az Arnt transzlokátor fehérje segítségével kerül a magba, ahol a CYP1A géneket szabályozva transzkripció enhancerként működik [3,4].

A kadmium *in vivo* hatását a pontymáj mikroszóma citokróm P450A enzimek aktivitására és indukálhatóságára 2 mg/testtömeg kg dózisu Cd²⁺-kezelés után vizsgáltuk. A fémkezelést követő 6. napon a CYP1A géneket BNF adagolásával indukáltuk. A kadmium citokróm P450A enzimekre gyakorolt közvetlen hatását az etoxirezorufin O-deetiláz (EROD) és az etoxikumarin O-deetiláz (ECOD) enzimaktivitások mérésével követtük, a CYP1A indukciót a kontroll, a kizárólag BNF-kezelésben részesült, valamint a Cd²⁺- és BNF-kezelést egyaránt kapott minták EROD aktivitásváltozásai alapján vizsgáltuk (1. ábra).

A kadmium az alkalmazott kezelési koncentrációban a várakozással ellentétben az EROD és az ECOD enzimek aktivitásnövekedését eredményezte, de a BNF-kezelést nem követte további EROD aktivitásnövekedés. Egyes szerzők szerint a nehézfém hosszú távú expozíció esetén kötődik a fosfolipid membránokhoz, megváltoztatja a felület töltését és a lipid molekulák konformációját, a szabad fémionok pedig a sejtekben a fehérjemolekulákkal kölcsönhatásban fejtik ki toxikus hatásukat [5,6]. Tekintettel arra, hogy a citokróm P450 enzimek az ER membránban lokalizálódnak, az enzimaktivitás növekedésének egyik lehetséges okaként nem zárható ki a mikrokörnyezet változása, ugyanakkor a lipid-fehérje kölcsönhatás védi a fehérjéket a további denaturálódástól. Ezzel szemben a kadmium az EROD indukálhatóságának látszólagos gátlását eredményezte, további vizsgálatok szükségesek azonban annak az eldöntésére, hogy a gátlás transzkripciósi vagy /és transzlációs szinten történt-e. A következőkben a kadmium által indukált oxidációs hatásokat, illetve a védekezőrendszer néhány elemének, az antioxidáns enzimek, a stresszfehérjék, valamint a metalloproteinek lehetséges szerepét vizsgáltuk a sejtekben.



A József Attila Tudományegyetem Biokémiai Tanszékének környezetbiokémiai munkacsoportja a peszticidek és a nehézfémek biokémiai hatásait kutatja a halak szervezetében. Újabban az érdeklődés középpontjába ugyanazok hatások által indukált stresszreakciók, valamint különböző halfajok molekuláris adaptációs mechanizmusának kutatása került. A halak specifikus stresszreakciói a vízi környezet állapotváltozásainak érzékeny bioindikátorai, s elemeit képezik az élővizek toxikológiai felmérésére alkalmazott biológiai módszereknek.



1. ábra A kadmium hatása a pontymáj mikroszóma citokróom P4501A enzimeinek aktivitására

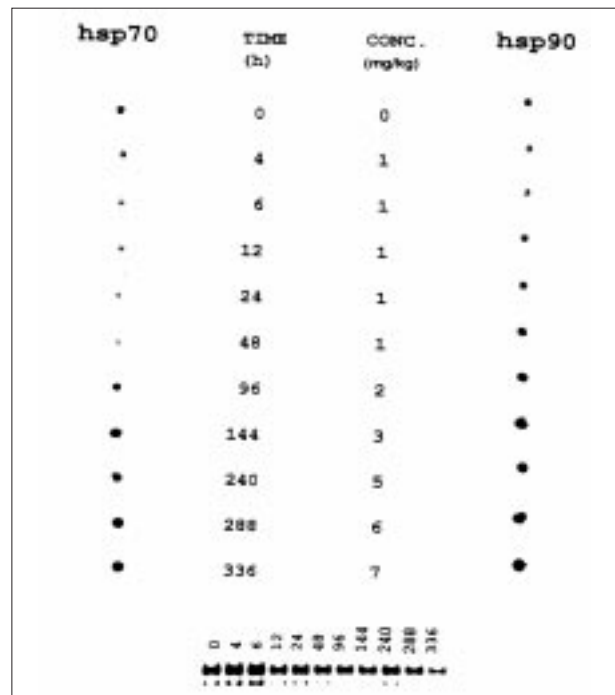
Oxidatív stresszhatás és antioxidatív stresszválasz

Az aerob metabolizmus esszenciális szubsztrátja az oxigén, amely egyszersmind reaktív oxigén szabadgyökök és peroxidok forrása is. Ezek elsődleges célpontjai a sejtekben a makromolekulák. Szabadgyökök és peroxidok keletkezhetnek többek között a fémionok által katalizált Fenton és Haber-Weiss reakciók során, továbbá a xenobiotikumok elektrontranszporttal kapcsolt metabolizmusa során is. Az antioxidáns adaptáció eredményeként indukálódik a szuperoxid anion scavenger szuperoxid dizmutáz (SOD), a hidrogénperoxidot bontó kataláz (CAT), valamint a szerves peroxidokat bontó glutation peroxidáz (GPx). Fontos antioxidáns molekula a glutation (GSH), amely elsősorban a sejtmembránokat védi a lipid peroxidációval szemben és szubsztrátja a GPx-nak. Az antioxidációs enzimek génjei redox szenzitív transzkripció faktorok segítségével aktiválódnak [7]. A halak antioxidáns enzimeinek működése jelentős faji eltérést mutat, és függ attól, hogy milyen külső tényező váltja ki a szabadgyökök keletkezését [8]. Kadmiumkezelést követően a pontymáj citoplazmatikus frakciójából a kontrollhoz képest nyhe SOD aktivitásnövekedés mérhető, míg a CAT és GPx enzimek aktivitása 15%-kal illetve 20%-kal nő. A kontroll értékeknél 30%-kal magasabb lipidperoxidáció arra utal, hogy az antioxidáns rendszer nem nyújt teljes védelmet a sejtmembránokat károsító hatásokkal szemben.

Stresszfehérje indukció

Az intracelluláris fémkoncentráció emelkedése és az oxidatív stressz a fehérjemolekulák denaturációjához vezet. A sejtekben ez stresszfehérjék indukálódását eredményezi, melyek védik az enzimeket, fehérjéket a denaturálódástól, illetve chaperonként viselkedve segítik a fehérje foldingot. A hsp gének expressziója a stressz intenzitásától és a fehérjeszintézis sebességétől függően autoregulált, a szabad hsp szint emelkedése a HSF transzkripció faktor aktivitásának gátlását, csökkenése pedig az aktiválódását okozza [9,10]. Néhány halfajban *in vivo* illetve *in vitro* vizsgálatok kimutatták, hogy hőstressz hatására a hsp70 és hsp90 stresszfehérjék szintje megnövekedett [11,12], azonban a nehézfémek indukálta transzkripció szintű változásokról halakban kevés adat áll rendelkezésre.

A kadmiumstresszt követő hsp70 és hsp90 gének indukcióját a pontymájban transzkripció szinten, specifikus próbákkal detektáltuk. Mindkét gén indukciója erősen koncentráció- és időfüggőnek bizonyult (2. ábra). A fémkoncentráció fokozatos, lassú emelésekor a hsp70 mRNS szint növekedése a negyedik naptól kezdődően, 2 mg/kg Cd-kezelést követően figyelhető meg, és a kezelés ideje alatt nő. A hsp90 mRNS alapszintje magasabb, mint a hsp70 transzkriptumé, s az indukció kissé korábban detektálható.



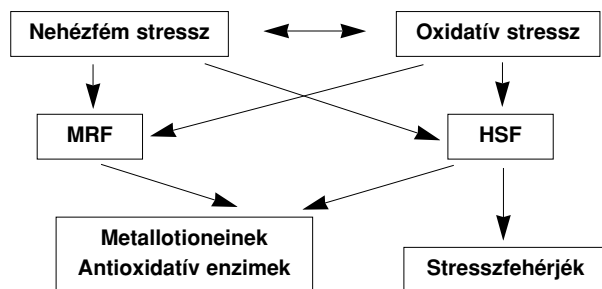
2. ábra Kadmiumstressz által kiváltott hsp70 és hsp90 indukció ponty májszövetben.

Metallotionein indukció

A metallotioneinek kis molekulatömegű, sok ciszteint tartalmazó fémkötő fehérjék, amelyek a nehézfémek toxikus hatásaival szemben védik a sejteket. A metallotionein gének nehézfém-regulált transzkripció faktorok segítségével indukálódnak [13], s a gének működését a nehézfémeken kívül citokinek és hormonok is szabályozzák [14]. A kadmium a ponty májszövetben közel háromszoros Cd-metallotionein szintnövekedést okoz: a kontroll mintákban mért 176 µg Ag ekv./g szövet MT koncentrációhoz képest a kezelt mintákban 482 µg Ag ekv./g szövet MT szint detektálható [15], és stabil Cd-MT-komplex alakul ki.

A kadmium okozta celluláris stressz-válasz mechanizmusa és következménye

A nehézfémek hatásának és eliminációjának elsődleges célpontja a gerincesek szervezetében a máj. Az alacsony, szubletális dózisú kadmiumkezelés a ponty májsejtjeiben MT szintnövekedést okoz, továbbá oxidáns hatású szabadgyök-katalizálta láncreakciókat, lipid-peroxidok illetve hidrogén-peroxid keletkezését indítja be. A védekezőrendszer – a kataláz és glutation peroxidáz – a létrejött peroxidoknak csak egy részét képes lebontani, s így a membránok integritásának lazulásával kell számolnunk, s nem zárható ki a fehérjék, esetleg nukleinsavak oxidációja sem. A nehézfémek szabadgyök-generáló hatása miatt várt szignifikáns SOD aktivitásnövekedés nem mérhető. Élesztőben, mint eukarióta modell szervezetben Liu és Thiele [16] a réz, illetve az oxidatív stressz hatását vizsgálva kimutatták, hogy a CuZn-SOD és CUP1 metallotionein génexpresszióját ugyanazon fém-specifikus transzkripció faktor szabályozza. Annak ellenére, hogy a kadmium nem okozott SOD aktivitásnövekedést, a továbbiakban kérdés az, hogy indukálódik-e a gén, valamint hogy a Cd okoz-e közvetlen, *in vivo* gátlást.



3. ábra A nehézfém stresszválasz élesztőben: regulációs modell [16].

A kadmium a ponty májsejtjeiben a hsp70 és a hsp90 stresszfehérje géneket indukálja. A gének expressziójának szabályzásáért felelős HSF transzkripció faktor az élesztőben a Cu okozta oxidatív stressz következtében a CUP1 metallotionein gén expresszióját is indukálja (3. ábra) [16]. Emlőssejtben ezzel szemben az oxidatív stresszt előidéző kémiai anyagok nem indukálják hsp70 gént, mivel nem teszik lehetővé a HSF kötődését a HSE megfelelő konszenzus szekvenciáihoz. Ezért emlősökben valószínűleg eltérő a hő sokk és a reaktív oxigén gyökök által kiváltott HSF mediált stresszválasz [17,18]. Hogy a halak szervezetében lejátszódó regulációs folyamat az élesztő- vagy emlőssejtéhez áll-e közelebb, a rendelkezésre álló hiányos adatok alapján nem ismert.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők ezúton mondanak köszönetet az Országos Kutatási Alapnak és a MEH Balatoni Titkárságának a kutatás pályázatok formájában történt támogatásáért (OTKA T20353, MEH 14/97).

Irodalomjegyzék

- [1] Stegeman, J.J. (1995) In: Cell Biology, Vol. 90: Molecular aspects of oxidative drug metabolizing enzymes. (Arine, E., Schenkman, J.B., Hodgson, E., Eds.), Springer-Verlag, Berlin, pp. 135-158.
- [2] Denis, M., Cuthill, S., Wikstrom, A.-C., Poellinger, L., Gustafsson, J.-A. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **155**: 801-807.
- [3] Wilhelmsson, A., Cuthill, S., Denis, M., Wikstrom, A.-C., Gustafsson, J.-A., Poellinger, L. (1990) *EMBO J.*, **9**: 69-76.
- [4] Reyes, H., Reisz-Porszasz, S., Hankinson, O. (1992) *Science*, **256**: 1193-1195.
- [5] Cvec, G. (1990) *Biochem. Biophys. Acta*, **1031**: 311-382.
- [6] Toccane, J.F., Teissie, J. (1990) *Biochim. Biophys. Acta*, **1031**: 111-142.
- [7] Storz, G., Polla, B.S. (1996) In: Stress-inducible cellular responses. (Feigwe, U., Morimoto, R.I., Yahara, I., Polla, B., Eds.) Birkhauser Verlag, Basel. pp. 239-254.
- [8] Winston, G.W., Di Giulio, R.T. (1991) *Aquat. Toxicol.*, **19**: 137-161.
- [9] Morimoto, R.I. (1993) *Science*, **259**: 1409-1410.
- [10] Mizuno, S., Ishii, A., Murakami, Y., Akagawa, H. (1997) *Cell Struct. Funct.*, **22**: 7-13.
- [11] Ryan, J.A., Hightower, L.E. (1994) *Environ. Toxicol. Chem.*, **13**: 1231-1240.
- [12] Williams, J.H., Farag, A.M., Stansbury, M.A., Young, P.A., Bergman, H.L., Petersen, N.S. (1996) *Environ. Toxicol. Chem.*, **15**: 1324-1328.
- [13] Roesijadi, G. (1992) *Aquat. Toxicol.*, **22**: 81-114.
- [14] Olsson, P.-E., Zafarullah, M., Foster, R., Hamor, T., Gedamu, L. (1990) *Eur. J. Biochem.*, **193**: 229-235.
- [15] Ábrahám, M., Tóth, M., Juhász, M. (1995) In: Mengen and Spurenelemente (Anke, M., Ed.), Verlag Harald Schubert, Leipzig, pp.238-244.
- [16] Liu, X.-D., Thiele, D.J. (1997) *Methods: A Companion to Methods in Enzymology*, **11**: 289-299.
- [17] Jacquier-Sarlin, M.J., Polla, B.S. (1996) *Biochem. J.*, **318**: 187-193.
- [18] Tacchini, L., Pogliaghi, G., Radice, L., Anzon, E., Bernelli-Zazzere, A. (1995) *Biochem. J.*, **309**: 453-459.

Biotechnológia: a szellem már kívül, de megvan-e még a palack? (Kísért Asylomar)

A legutóbbi hónapokban példátlanul nagy nyilvánosságot kapott a „Pusztai-ügy”, mind szakmai, mind pedig laikus körökben. *Pusztai Árpád*, egykori kollégám pályafutását a jelenlegi Enzimológiai Intézet jogelődjében, a Magyar Tudományos Akadémia Biokémiai Intézetében kezdte. 1956-ban emigrált, hosszas szakmai hanyattatás után a skóciai Rowett Research Institute-ban (RRI) kötött ki. Aki ismeri a britek (angolok) önimádatának mértékét, ráadásul olvasta Mikes György apró remekművét, a „*How to be an Alien*”-t (Anglia papucsban) megfelelően tudja értékelni Pusztai Árpád szakmai kiválóságát annak fényében, hogy „foreigner” – sőt meglehetősen szókimondó „foreigner” – léte az RRI-ben állandó státuszt és tisztas létszámú munkacsoportot kapott. Évek során a lektinek első osztályú szakértőjévé küzdötte fel magát, és kémikus létére el tudott szakadni a csupasz kémiai-biokémiai szemlélettől, felismerve a biológia tudományának szintetizáló jelentőségét.

A vihar kezdete

A rekombináns DNS-technológiában rejlő, szédítő perspektívát az alap kutatással foglalkozó tudósok szinte a felfedezés pillanatában felismerték, de a racionalitás talaján mozgó, „ez-dollárban-ugyanmit-ér” szemléletű üzleti szféra is hamar rájött a felfedezésben rejlő lehetőségekre.

A tudományos eredmények gyakorlati alkalmazásában a gyógyszeripar, de elsősorban a mezőgazdasághoz kapcsolódó iparágak (növénytermesztés, élelmiszeripar) léptek az élre.

Mint a legtöbb, a kor szavát megértő tudós, Pusztai Árpád is tisztában volt a rekombináns DNS-technológia tudományos és ipari jelentőségével. Az RRI-ben a Skót Mezőgazdasági Minisztérium által biztosított anyagi támogatással – az élelmiszeripar területén eddig nem alkalmazott módszerekkel – azt kezdte vizsgálni, hogy a magasabb rendű szervezetekre ártalmatlan, de inszekticid hatású lektint szintetizálni képes génmanipulált (GM) burgonya (GMB) táplálkozás-élettani hatása milyen. Semmi hatást nem várt, de meglepetésére talált. *Előzetes* kísérletei szerint súlyméréssel megállapította, hogy a GMB-vel etetett fiatal patkányokban visszama-

radt a máj, a tüdő, a vese és az agy növekedése, fokozódott viszont a hasnyálmirigy és a herék gyarapodása. Hátrányára változott az immunrendszer is. Minthogy a kísérletekre szánt keret kimerült, a vitathatatlanul szükséges folytatáshoz további anyagi támogatást kellett szereznie. Ezért, és nem feltűnési vágyból beszélt a televízió nyilvánossága előtt alig két és fél percig, 1998. augusztus 10-én. A szenzációra éhes média és az angol nyelvterületen különösen erős zöld mozgalmak azonnal reagáltak: a természet világába történő kontrollálatlan beavatkozásként értékelve a történeteket, a GM-élelmiszerek forgalmazásának betiltását, de legalább megkülönböztető jelölésüket követelték.

A vihar kitör

A riport után két nappal Pusztai Árpádot munkahelyéről kitiltották, a kutatási témát leállították.

Az Internet jóvoltából szinte naprakészen lehet mindmáig követni az esemény reflexióit [1]. Az RRI bizottságot alakított Pusztai Árpád mérési eredményeinek értékelésére. Jelentésüket (*Audit Report, AR*) az Interneten is közzétették [2]. Az AR Pusztai eredményeit értékelhetetlennek, és a belőle levont következtetéseket alaptalannak ítélte. Az AR-re Pusztainak módja volt válaszolni, de miután a kísérletes adatait előle elzárták, őt az Intézetből kitiltották, ez bizony nem volt könnyű.

Az ügy egyre nagyobb hullámokat vetett, eljutott egészen a brit Parlamentig, ahol a Tudományos és Technológiai Bizottság (*Science and Technology Committee*) hallgatta meg mindkét felet. Ennek konklúziója nem volt publikus. A kormány végül is a *Royal Society*-t (RS) kérte fel állásfoglalásra. Ez a napokban született meg, szintén olvasható az Interneten [3]. Az állásfoglalás – mely külön fejezetet érdemelne – négy pontban foglalja össze következtetéseit:

„1. ... a rendelkezésünkre bocsátott információ alapján a Rowett-ben készült jelentés alapját képező munka sok tekintetben rosszul tervezett, kivitelezett és értékelt, abból semmiféle következtetés nem vonható le.

2. Nem találtunk a GM-burgonya káros hatására

vonatkozó adatot. Ahol az adatok mutattak valami-féle csekély különbséget a GM és nem-GM (vad) burgonyák hatásában, e különbségek értékelhetetlenek voltak a kísérletek technikai korlátjai és a statisztikai tesztek téves használata miatt.

3. A kérdéses munkát egyetlen meghatározott állatfajjal végezték, melyet egyetlen meghatározott módszer alkalmazásával, egyetlen meghatározott génnel módosított, egyetlen meghatározott termékkel etettek. Jóllehet a kísérleteket szakszerűen végezték, nem vonható le általános következtetés a genetikailag módosított élelmiszerek humán ártalmasságáról vagy ártalmatlanságáról. Minden egyes GM-élelmiszert külön kell megvizsgálni.

4. Az egész epizód legfőbb tanulsága annak fontossága, hogy a kutató tudósok kutatási eredményeiket bírálatra hajlandó társaiknak bemutassák, mielőtt azokat a nyilvánosság elé tárják.”

Az RS bizottsága nem fogadta el Pusztai Árpád érvelését, mely szerint eredményei belső intézeti dokumentumok voltak, ezért nem volt lehetőség a hiányolt „peer review” bekérésére. Arra sem volt hajlandó, hogy a „vádlott”-at személyesen meghallgassa.

Az RS jelentés szerint Pusztai Árpád lehetőséget kapott az RS jelentés alapját képező bírálatok kommentálására. Ezeket a megjegyzéseket a Pusztai Árpád által kiadott sajtótájékoztató szerint május 13-án déli 12-ig kérték vissza úgy, hogy három bírálati anyagot 8-án, kettőt 10-én, egyet 13-án küldtek ki részére, ez esetben 35 percet adva a válasz megfogalmazására.

A tényeket lecsupaszítva mi is történt valójában? Egy tapasztalt és eredményes kutató olyan – a GM-élelmiszer ellenőrzése területén korábban soha nem alkalmazott – vizsgálatokat végzett, melyek előzetes eredményei gyanút ébresztettek egy meghatározott GM-élelmiszer ártalmasságával kapcsolatban. Ezeket a vizsgálatokat folytatni kívánta, ehhez további anyagi támogatásra volt szüksége, amit a *részeredményekre* hivatkozva kért. Az egész probléma-komplexum már régen feledésbe merült volna, ha a megbízók vagy a potenciális haszonélvezők lemondanak remélt profitjuk egy jelentéktelen részéről, támogatját a vizsgálatok kiterjesztését, azok befejeztével esetleg módosítják az általuk kidolgozott technikát, és újabb kontroll után zöld utat kapnak a piacra. De szemmel láthatólag nagyobb volt pénz-

éhségük, mint bölcsességük. Veszélyeztetve érezték eddigi befektetéseiket, és nem tűrték, hogy bárki megkérdőjelezze elképzelésük jogosságát. Háborúba mentek, aminek távolról sem biztos, hogy ők lesznek a győztesei. Nagyon fontos az is, hogy bárhogy ítéli meg a RS Pusztai kutatói kvalitásait, kimondta, hogy minden GM-élelmiszerre egyedi vizsgálatot szorgalmaz.

A kavart vihar hatására már tiltakozott a Brit Orvosok Szövetsége (*Brit Doctors' Association*) [4], egyre erősebben háborognak a Zöldek, a nagy élelmiszerforgalmazó cégek egymás után vonják vissza a piacról a GM-nyersanyagból készített élelmiszertermékeiket.

No és itthon?

Amikor a *Pusztai-ügy* hullámai hozzánk is begyűrűztek, a reflexió kétféle volt. A Rowett eljárása ellen elsősorban a Pusztai szakmai munkásságát jól ismerő és értékelő tudóscsoport tiltakozott, a nyilatkozat – amit magyar részről e sorok íróján kívül még ketten írtak alá – a *Guardian* hasábjain jelent meg. Egyéb hazai állásfoglalás nyíltan azonban csak néhány riportban hangzott el. A másik álláspontot a félrenézés jellemezte és jellemzi. A Rowett által készített *Audit Report* és Pusztai válasza rendelkezésre állt ugyan, de kezdeményezésem után szakértő helyeken még attól is elzárkóztak, hogy „*gratis*” belenézzenek. Szigorúan „*privát*” természetű „*folyosói*” vélemények persze elhangzottak, köztük egy nagynevű és mértékadó akadémikusé, aki Pusztai állításait sommásan figyelemre érdemtelen felfújtnak minősítette.

Hosszas habozás után az MTA Biológiai Osztály rászánta magát arra, hogy a Magyarországon tartózkodó Pusztai Árpádot felkérje eredményeinek ismertetésére. Az előadás április 26-án, az MTA Kistermében zajlott, kb. negyedház előtt. Az előadást követő vita jó alkalom lett volna az ellenvélemények kifejtésére, a „*felfújtnak*” kipukkasztására. Nem történt meg; sem a háttérnyilatkozók, sem a hozzájuk kötődő második vonal nem szólalt meg – mivel jelen sem voltak. Ugyanez az egyoldalú (szervezett?) közöny volt jellemző az ELTE-n rendezett délutáni előadáson, ahol a kétszázas befogadóképességű előadóban a lépcsők is tele voltak, számtalan hozzászólás hangzott el, de a remélt vitára itt sem került sor.

Mi lesz a kieresztett szellemmel?

A mesebeli szellem – megfontolatlan kieresztése után – el akarja pusztítani szabadítóját. A bölcs cselesen visszatereli a palackba, és másodszor csak előírt feltételek betartása esetén engedi ki. Ez a szellem szavatartó, kiszabadítóját annak három kívánsága erejéig híven szolgálja.

A génmanipuláció szelleme a palackból kikerült. Vissza kell-e terelni? Nemigen lehet, mert a palack Asyloamar elfeledtével összetört. De ez a szellem azért nem az Ezeregyéjszaka egyértelműen gonosz szelleme. Sokra képes, de parancsolóin múlik, hogy mit csinál.

De ki vagy mi parancsoljon neki? Jelenleg úgy tűnik, hogy döntő súllyal az anyagi érdekelttség és a gyors haszonszerzés – valamiféle karitatív, emberiségmentő jelmezbe bújtatva. Lehetőleg úgy parancsol, hogy arra, aki fenntartásokat hangoztat és óvatosságra int, könnyen rá lehessen mondani –

akár egy nagy tekintélyű testület felhasználásával – hogy korlátolt, szakmájához nem ért, a tudomány és a haladás ellensége. (Csak emlékeztetőül: amikor a francia Halhatatlanokat a repülőgép gondolatával zaklatták, a Halhatatlanok határozatban mondták ki, hogy márpedig a levegőnél nehezebb, emberkéz alkotta tárgyak soha nem lesznek képesek repülni.) Csaknem 30 éve volt egy Asyloamar. Évekkel utána úgy tűnt, hogy az ott megfogalmazott aggályok indokolatlanok voltak. Ezek az aggályok azonban az előre nem látható mértékű haladás eredményeképpen újjáéledtek – nem csupán az itt emlegetett eset kapcsán. Nem lenne szükség egy újabb Asyloamarra?

Irodalom

- [1] plab.ku.dk/tcbh/Pusztaitcbh.htm
- [2] www.rri.sari.ac.uk/gmo
- [3] www.royalsoc.ac.uk/press/pr_15_99.htm
- [4] www.bma.org/public/scienc/genmod.htm

Sajgó Mihály

Első Nemzetközi Környezetvédelmi Technológia Konferencia

Az Európai Unióba belépésre várakozó országok programja az elérhető és fenntartható fejlődésért.
Víz tisztaság és hulladékgazdálkodás.

Új lendület a környezetvédelmi iparban: 1999. november 18-án Budapesten, a Gellért Hotelben a Termikus Deszorpciók Technológia Gyártómű Kft. / Edward Soméus és a Hudefo Alapítvány környezetvédelmi technológia konferenciát szerveznek, az elérhető és fenntartható fejlődés EU kapcsolt programok kialakulásának elősegítése érdekében a víz tisztaság és a hulladékgazdálkodás tematikáiban.

Az erős európai gazdaság környezetszabályozása gyors ütemben fejlődik, és a környezetvédelmi illetve „öko-iparok” piaci lendületesen bővülnek. Emellett a különböző kis és nagy szervezetek kereskedelmi kockázat menedzselése azt jelenti, hogy környezetvédelmi teljesítmények és hatékonyság javítását elősegítő technológiákra van igény. A magyarországi környezetvédelmi ipari piac becslések szerint 10–15 milliárd Euro-t tesz ki a következő tíz év során.

Az új EU- és USA-beli ipari és környezeti követelmények és átfogó normák jelenleg folyó gyors ütemű szigorodása során a hagyományos környezetvédelmi és ipari technológiák műszaki és költség-hatékonysági alkalmazásai elérték lehetőségeik végső határait. Ezért a XXI. század új ipari, környezetvédelmi és költség-hatékonysági kihívásait kielégíteni tudó új generációs, innovatív környezetvédelmi technológiák fejlesztése, tervezése és integrált alkalmazásai szükségesek.

Az „öko-ipari” piacok világméretű gyors fejlődése során elérkezett az idő a technológiai és kereskedelmi fejlődés lehetőségeit kihasználó kezdeményezések megfélére. A fejlett öko-ipari technológiák alkalmazásának tendenciái egyértelműek:

- mezőgazdasági melléktermékek racionális hasznosítása (például aktív szén gyártására és komposztálásra),
- integrált biológiai és alacsony hőmérsékletű termikus deszorpciók talajtisztítás és rekultiváció,
- hulladékból tiszta energia,
- „tiszta víz” programok (az integrált kerámia + aktív szén szűrés-technika széles körű víz/folyadék és levegő/gáz tisztítási alkalmazásai, a membránszűrés-technika alkalmazásai),
- a tiszta technológiák alkalmazása és eszközeinek megteremtése, valamint különböző kiszolgáló háttér ipar létrehozása ezen szektorok számára,
- az egyedi projektekhez integrált, elérhető – hazai és külföldi – pénzügyi források meghatározása.

További felvilágosítást ad a szervező: Edward Soméus (környezetvédelmi mérnök),
Termikus Deszorpciók Technológia Gyártómű Kft. "TDT-3R",
E-mail: edward@mail.inext.hu

Tel.: 06-20-980 6996, Fax: 06-1-228 6045, Cím: 1222 Budapest, Széchenyi u. 59.

A géntechnológia szerepvállalása a növénynemesítésben: a Pusztai-botrány üzenete

A növénytermesztés kezdetei óta állandó törekvés az emberi céloknak jobban megfelelő növényfajták kinemesítése. A nemesítő elsősorban keresztezéssel és szelekcióval állítja elő a kívánt génkombinációkat hordozó tenyésztanyagokat. Jól bevált gyakorlat, hogy rokon vad fajokkal végzik a keresztezést. Így betegségekkel szembeni rezisztenciát biztosító gének építhetők be a kultúrnövényekbe. Keresztezés során nagyszámú gén véletlen rekombinációja következik be. Ezért természetes, hogy nem kívánt gének és tulajdonságok is megjelenhetnek a tenyésztanyagokban. A nemesítő feladata az, hogy kitisztítsa a populációt, eltávolítsa a nem kívánt egyedeket, és a fajtafenntartás során biztosítsa a termék minőségét. A nemesítő szakmának megvannak a szabályai, éveken át folyik a növények értékelése és megfigyelése. Az eddigi tapasztalat szerint ez a tevékenység sikeres volt, és nagyban hozzájárult az agrárium eredményességéhez. A növénynemesítői beavatkozások végső célpontját a gének jelentik, így érthető módon a nemesítés mindig támaszkodott a genetikai kutatások eredményeire. Gondoljunk a poliploidia, heterozis vagy mutációs módszerek felhasználására. A megváltozott kromoszómákat hordozó növények gyakran rendellenességeket mutatnak. A nemesítő dolga az, hogy a keresztezések sorozatával csak az értékes géneket építse be a fajtába. A nyolcvanas évek kezdete óta lehetővé vált a rekombináns DNS-módszerek felhasználása növényi gének izolálására. 1983/84-ben közölték az első transzgenikus növény előállítását. Mivel az izolált gének kedvező tulajdonságokat alakíthatnak ki a tenyésztanyagokban, ma már a géntechnológiai megközelítések egyre inkább a nemesítés integráns, a versenyképességet meghatározó részévé válnak. Így a nemesítés egy új metodikai alapjáról van szó, ami az egész fajta-előállítási tevékenységen keresztül hasznosítható. Azt, hogy milyen eredményességgel, a tények mutatják. Az alábbi táblázat szerint 1997-ben 27,8 millió hektáron termesztettek ilyen fajtákat. Feltételezhetően gazdasági, agronómiai és minőségi előnyeknek köszönhetően. Ezek a számok önmagukért beszélnek, és mutatják a technológia használhatóságát. A rendszer integráns részét jelentik – különösen takar-

mányok és élelmiszerek esetében – az etetési kísérletek. Hammond és *mtsai* közleménye [1] 1996-ban jelent meg a transzformáns szója élelmezési értékeiről. Tehát ezeknek a fejlesztési programoknak, hasonlóan a gyógyszerkutatásokhoz, megvannak a szabályai, az értékelés több szinten megtörténik. A kockázatot hivatottak csökkenteni a toxikológiai vizsgálatok, amelyeket a fejlett országok törvényei írnak elő.

Géntechnológiával módosított növények termesztése 1997-ben és 1998-ban (millió ha)*

Ország	1997	1998	Növekedés	Növényfaj	% (1998)
USA	8,2	20,5	12,4	szója	51
Argentína	1,4	4,3	2,9	gabona	30
Kanada	1,3	2,8	1,5	gyapot	9
Ausztrália	0,1	0,1	< 0,1	olajrepece	9
Mexikó	< 0,1	0,1	< 0,1	burgonya	1
Spanyolország	0,0	< 0,1	< 0,1		
Franciaország	0,0	< 0,1	< 0,1		
Dél-Afrika	0,0	< 0,1	< 0,1		
Összesen	11,0	27,8	16,8		100

* Clive James [2] nyomán.

A Pusztai Árpád által elindított kampány azért tekinthető kifejezetten félrevezetőnek és károsnak, mert egy korai fázisban félbeszakadt kísérletet ragad ki példaként, és figyelmen kívül hagyja azt a tényt, hogy kísérletei egyetlen láncszemet jelenthetnek egy közel évtizedes fejlesztési folyamatban. Ráadásul súlyos szakmai kételyek merülnek fel a kísérleti eredményeket és azok interpretálását illetően. Ezt erősíti meg a *Royal Society* vizsgálatának eredménye, amely hibás tervezésről, kivitelezésről és analízisről ad számot a kísérletekkel kapcsolatosan. Ez a tekintélyes szervezet Pusztai Árpád következtetéseit megalapozatlannak tartja

(*Financial Times*, 1999. május 23.). Minden tudós, kutató csinál rossz, elhibázott kísérleteket. Ez azonban nem ad alapot ahhoz, hogy a nyilvánosság elé álljunk, és világra szóló általános következtetéseket vonjunk le. Hasonlóan, a gyógyszereket fejlesztő kutatók nem a 499 használhatatlan vegyületre koncentrálnak, hanem arra az egyre, amely gyógyít és nem, vagy kevésbé károsít. Pusztai Árpád adatai azon túl, hogy a kísérletek megismétlését sürgetik, sok figyelmet nem érdemelnének. Hiszen még szakmai közleményben sem jelentek meg. A magyar média nagy szenzációt keltett az elszármazott tudós hazai szereplési kapcsán. Bőven akadnak a hatást fokozó támogatók, érdekes módon más tudományterületek művelői, akik életükben még nem dolgoztak a géntechnológiával előállított növényekkel. A félretájékoztató által okozott károkat talán mérsékli, ha néhány kérdést szakmailag közelebről megvizsgálunk.

1.) A használt növényanyag milyensége

Két, transzformációból származó gumóminta „postán” érkezett a Rowett Kutató Intézetbe. Tehát Pusztai Árpád maga nem végzett transzformációs kísérleteket. Ennek a területnek nem szakembere. Ott még tovább szaporították az anyagokat. Érdekes módon a hóvirág lektintartalma megváltozott, csökkent a szaporítás során. Ennek a lektinnek a génjét építették be a kutatók. A szülői és transzformáns növények számos, nem a génbeépítéssel összefüggő tulajdonságaikban is eltértek (fehérjeteralom, a burgonya lektinmennyisége). Figyelmet érdemel, hogy a toxikus glükokoalkaloidszint nem került meghatározásra. Márpedig a burgonyagumó könnyen mérgezővé válhat, akár csak a fény hatására bekövetkező zöldülés folytán. A burgonya, mint kísérleti objektum, nem szerencsés választás, hiszen ennél a növénynél igen gyakori a vegetatív szaporításból adódóan a szövettenyészetekben megjelenő genetikai variabilitás. Éppen ezért nagyszámú – többszáz – transzformánst kell előállítani. A nem kívánt vonalak szelektálása után a gént stabilan kifejező, több tíz genotípussal folytatódik a nemesítői munka. Manapság még egy közleményt sem lehet elfogadtatni egy-két transzformáns adataival. Komoly szakmai tájékoztatásra vall – a géntechnológiai nemesítés területén –, ha bárki egyetlen transzformánssra alapozva, az emberi egészséget fenyegető veszélyre hivatkozik. Éppen

az etetési kísérletek adnak biztos háttérrel az eredményes szelektációra. Ezért kapta ezt a feladatot Pusztai Árpád. Ez nem az első eset, hogy így értékelik a géntechnológiával előállított tenyésztőanyagokat (lásd [1] hivatkozás). Sőt megkövetelt gyakorlat.

2.) A hóvirág lektin és a szintézisét biztosító gén lehet-e a ludas a károsító hatásért?

A fenti kérdésre maga Pusztai Árpád vizsgálatai adnak egyértelmű választ, hogy nem. Ugyanis a kontroll burgonyához adott 1200 µg/g mennyiségű lektin nem okozott károsodást. Különben is 20 perces 110 °C-os főzés után a transzformáns gumókban is csak nyomokban mutatható ki a hóvirág lektin. A félbemaradt kísérletek részleteivel igen sokan foglalkoztak. A 12 patkány adatai sokszor nem elégségesek a megbízhatóság kimondásához. Nem igazán támasztják alá az agy méretének csökkenését, amire a magyar tv-állomások már úgy hivatkoztak, mint a gyerekeket fenyegető elsődleges veszélyre. Ha nem a hóvirág lektin, akkor mi lehet a bűnös? Mivel alkaloid vizsgálati adatok nincsenek, és illik a géntechnológiát kárhóztatni, kézenfekvő a karfiol mozaik vírusból származó promotere terelni a gyanút. Ez megint egy szakterületen kívül álló kutató javaslata, amely tájékoztatásból fakad. Hiszen a 27,8 millió hektáron termesztett transzgenikus fajták döntő többsége hordozza ezt az elemet. A szójával végzett etetési kísérletek is ilyen eredetű növényekkel történtek [1]. Ezekben a vizsgálatokban a nem kívánt mellékhatások nem jelentkeztek.

Talán túl sok energiát és figyelmet kötöttek le ezeknek a félresikeredett kísérleteknek az eredményei. Pusztai Árpád jelentése, illetve a terjedelmes irodalom a Rowett Kutató Intézet honlapján belül [3] megtalálható. Különösen aggasztó a média torzító, felfokozó hatása. Igen nagy a kutató felelőssége, hogy ne adjon tápot megalapozatlan félelemkeltésre. A magyar lakosság – köszönhetően a kiemelt figyelemnek – félreinformálása olyan jól sikerült, hogy az emberek nem mertek zöldséget vásárolni. Mindez azért, mert egy fejlesztési projekt kezdetén problémák jelentkeztek. Többéves, esetleg 5–8 éves további vizsgálat és nemesítés választja el a szóban forgó burgonya tenyésztőanyagot attól, hogy tényleg forgalomba kerülhessen. A géntechnológia természetesen azt is lehetővé teszi, hogy egy adott gén működését korlátozni tudjuk. A jelen esetben egy

levél specifikus promoter használata mindenképpen szerencsés lett volna, tekintettel a hatóanyag széles hatásspektrumára. Tehát már a tervezéskor hiányzott az előrettekintés.

A géntechnológiával kinemesített fajták értékét az idő és az agrártermelés gyakorlata hivatott visszazigazolni. A termőterület növekedésének üteme (lásd Táblázat) azt vetíti előre, hogy a nemesítésnek ez a módja általánossá válik. Ez különösen várható azért, mert ezzel a beavatkozással járó kockázatok a nemesítés során felismerhetők és kiküszöbölhetőek. A géntechnológiai törvény is garanciákat épít be a hibák csökkentésére. Az áru minősége, ára befolyásolja majd a gazdák és a vásárlók szabad döntését. Persze nehéz szabad választásról beszélni akkor, amikor befejezetlen, hibás kísérletek szolgál-

nak a félelemkeltés alapjául. A rossz termékek idejekorán történő kiszűrése, a közvélemény korrekt tájékoztatása elvezethet majd oda, hogy ez a nemesítési módszer alapja lesz a környezetbarát, minőségközpontú agrártermelésnek.

Irodalom

- [1] Hammond, B.G., Vicini, J. L., Hartnell, G.F., Naylor, M.W., Knight, C.D., Robinson, E.H., Fuchs, R.L., Padgett, S.R. (1996) The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance, American Institute of Nutrition pp. 717-727.
- [2] James, C. (1998) Global review of commercialized transgenic crops: 1998, ISAAA Briefs No. 8-1998.
- [3] <http://www.rri.sari.ac.uk/gmo/ajp.htm>

Dudits Dénes



European Commission, DG XII Programme Training and Mobility of Researchers

Association of Greek Chemists
Laboratory of Analytical Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki
and Institute of Analytical Chemistry, Vienna University of Technology

3rd Euroconference on Environmental Analytical Chemistry

ENVIRONMENTAL ANALYTICAL CHEMISTRY FOR THE 21ST CENTURY

October 9–15, 1999
Chalkidiki, Greece

The Third Euroconference on Environmental Analytical Chemistry will focus on upcoming environmental issues of the 21st century and both review the future needs for the development of analytical methods and procedures and propose strategies for an integrated environmental assessment. It will feature invited lectures of internationally renowned scientists in these fields and give ample possibility to predominantly younger researchers to present their results in both the field of analytical method development and procedures for environmental assessment. Significant time will be allocated to discussions. Attendance will be limited to 100 persons.

40 fellowships covering accommodation with full board will be made available for young researchers from EU member and associated states. Furthermore, 20 researchers from less favoured regions are eligible to receive a contribution to the costs of travel of up to 80.000 Drs (ca. Euro 250).

Sponsorship: Division of Analytical Chemistry of the FECS

INFORMATION: Mrs. Zacharenia Loukou, Analytical Chemistry Laboratory, Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki
GR-54006 Thessaloniki, Greece; Phone: +30-31-99 78 66; FAX: + 30-31-99 77 19
E-mail: rloukou@chem.auth.gr; <http://www.chem.auth.gr/euroconf/enviro.html>

Az elmúlt években a doktoranduszok első csoportjai túljutottak a PhD képzés évein. Szaporodnak a doktori értekezések. Ezzel együtt szaporodnak azon alkalmak is, amikor az ember bírálóként, hallgatóként bosszankodik az angolszász szakmai kifejezések szolgai átvételén, avagy – és ez még mindig a százszorta jobb eset – vitára készíti a doktorjelölt nyelvújító szándékának némely torzszüleménye.

Egyre több helyen vetődik fel az igény, hogy fórumot kellene teremteni az új szakkifejezések formálásának, az ebben kialakítható konszenzus megteremtésének. Természetesen a dolog megoldható lenne ülésezéssel is. Egyesületünk – a szakma nagynevű nemzetközi szervezeteihez hasonlóan – létrehozhatna egy „nómenklátúra bizottságot”, amely hősámra folytathatná tartalmas vitáit az angol vagy más nyelvű szakszavak helyes magyar megfelelőin. Egy doktori védés résztvevőiből verbuvált botcsinálta bizottság azonban úgy vélte, hogy a diadalmas huszadik és a még diadalmasabb (?) huszonegyedik század fordulóján erre az Internet alkalmasabb. Így kísérletképpen egyesületünk honlapján (<http://korb1.sote.hu/biokemia>) rovatot indítunk a gyakrabban használt külhoni szakszavak magyar megfelelőjének megkeresésére. Arra kérem kedves tagtársainkat, hogy ha rábukkannak bármely olyan szakszóra, amelynek magyar megfelelőjében nem biztosak, akár van javaslatuk a „magyarításra”, akár nem: látogassák meg az egyesületi honlap „Nyelvőrző” rovatát, és tegyék fel a szakkifejezést, hogy magyar megfelelője interaktív vitában kialakulhasson. Ha nincs magyarosítandó szakszavuk, akkor is érdemes a „Nyelvőrző” rovat fele elbóklászni, mert minden tagtársunk értékes javaslataira nagy szükség van az addig felrakott szakszavak végső magyar változatának kialakításában.

„Étvágygerjesztőként” (és egyben hasznos tanácsként) a szerző engedélyével hadd álljon itt Tomcsányi Pál egy készülő könyvének (amely a kutatómódszertan számos izgalmas kérdését fogja összefoglalni) egy részlete: „Az idegen nyelvű terminus technicusok magyar nyelvű használatát a szerző az MTA Marketing Terminológiai Munkabizottságának az alábbiak szerint ajánlotta (a példákat ezért a marketingből vette):

1. Azonos jelentésű magyar szó használata (pl. *consumer* = fogyasztó, *advertising* = hirdetés). Az ilyen, fordításként történő magyarosításkor ne a szavakat, hanem az értelmet adjuk vissza (pl. *industrial goods* nem ipari termék, hanem ipari javak, vagyis termelőeszközök).

2. Megfelelő magyar szinonima, több jelentésárnyalattal, ami fordításkor a szövegkörnyezetből adódik (pl. reklám lehet *advertising* vagy *promotion*, a piackutatás lehet *market research*, vagy *marketing research*).

3. Magyar tükörfordítás (pl. *desk research* = asztali kutatás).

4. Idegen betűszó (akronima) magyar kiejtéssel (pl. PR, ejtsd: péer; WC, ejtsd: vécé; és nem piár, vagy dábljuszi).

5. Latin és görög eredetű idegen szavak a magyarban szokásos áthasonítással és kiejtéssel (pl. *promotion* = promóció, nem ejtve promosn-nak).

6. Idegen szakkifejezés eredeti kiejtéssel és magyar írásmóddal (pl. szoftver, hardver). Fontos szempont a kiejthetőség és a ragozhatóság: ezért imázsszal és nem image-dzsel, vagy fonetikusán írva imidzsel) fejezzük ki magunkat jobban, a hangzás kedvéért ez esetben a francia formát átvéve.

Az idegen nyelvű terminus technicusok alkalmazásának elvei:

a) Idegen szakkifejezés csak új tartalmú fogalom jelölésére fogadható el.

b) Idegen szakkifejezések magyar szövegben való használatának a fenti hat formája ajánlható, ami felsorolásuk csökkenő sorrendjében kívánatos.

c) Akkor lehet indokolt az eredeti idegen szót megtartani, ha magyarra fordítása az értelmét eltorzítaná. (Ez esetben is a fenti 4–6. forma ajánlható.)

d) A szakkifejezés használt formája tegye lehetővé, hogy magyarra és magyarról való fordításban egyaránt alkalmazható legyen. (Ez a fenti 2. pont alatti szinonimák esetében lehet csak kérdéses.)

e) Kivételesen az idegen szavak eredeti írásmóddal és kiejtésükkel mint terminológiai idézetek szerepelhetnek tudományos igényű szövegekben.”

A fenti tanácsokhoz még csak egy (Tomcsányi professzor által is említett) további javaslat kívánko-

zik: az értekezés, illetve bármely más tudományos írásmű nem általános iskolai fogalmazás, azaz nem kell írójának szókincsének gazdagságát a szakkifejezések terén is csillogtatnia. Igen zavaró, és sok esetben kifejezetten megtévesztő, ha a régi tanár néni vöröstintás, felkiáltójeles „Szóisméltés!” megjegyzésére visszaemlékezve az ifjú (vagy csak örökifjú) tudós mindenáron szinonimákat alkalmaz a már egyszer megtalált szakszó helyett. Ilyenkor az olvasó a negyedik változatnál már végképp elkeveredik, és fogalma sincs, hogy voltaképp az író épp miről is

értekezik. Ennek a sokszor kényszerszülte változottságnak („a fene tudja, hogy is kellene ezt írni, próbáljuk meg hatféleleképpen, hátha egyik tetszeni fog”) a csökkentésére is alkalmas lehet egyesületünk honlapjának (<http://korb1.sote.hu/biokemia>) új rovata, a „Nyelvőrző”, amely azonban csak akkor segít, csak akkor tölti be feladatát, ha tagtársaink felkerekedik és javaslaataikkal gazdagítják.

Csermely Péter

(FAX: 266-6550, email: csermely@puskin.sote.hu)

Az új élet

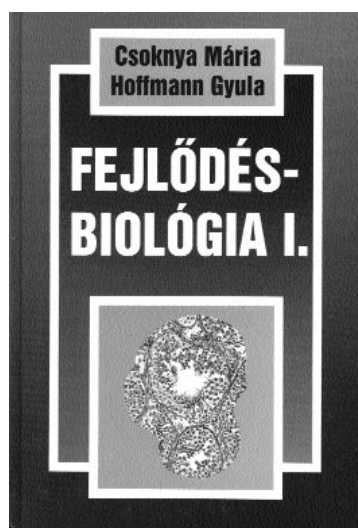
Csoknya Mária, Hoffmann Gyula: FEJLŐDÉSBIOLÓGIA I.

(Könyvismertetés)

Pro Pannonia Kiadó Alapítvány, Pécs, 1997

Minden ember más és más. Még az egypetűjű ikrek is eltérnek egymástól, bár külsőre sokszor nem vagy alig különböztethetők meg. Érdekes problémakör az egyedfejlődés, az öröklődés kérdése, amelyre az ember meglehetősen hosszú ideig nem tudta megadni a helyes választ. A mai kor embere, felhasználva az újabb és újabb kísérleti módszereket, valószínűleg megtalálta a legfőbb magyarázatokat, bár sötét foltok, nyitott kérdések még mindig nagy számmal találhatók, és valószínűleg még újabb kérdések is fel fognak merülni.

Egy új élet kialakulása, illetve az a kérdés, hogy melyek azok az okok, amelyek miatt az utódok hasonlítanak a szülői nemzedékre, már ősidők óta foglalkoztatja az emberiséget. Az öröklődés törvényeinek tanulmányozásában mérföldkövet jelentettek a Mendel által, a múlt század ötvenes éveiben elvégzett kísérletek, amelyek során (szerencsés kísérleti „alanyválasztásának” köszönhetően) bizonyította, hogy a szülői tulajdonságok pontos törvényszerűségeket követve jelennek meg az utódokban.



Az egyedfejlődés vizsgálatával, valamint az egyes tulajdonságok öröklődésének mechanizmusaiával két tudományág foglalkozik: a genetika és az embriológia. Ezen két tudományág egymástól nehezen választható el, hiszen az embrionális fejlődés

folyamata genetikai módszerekkel tanulmányozható, s ennek köszönhetően a két szakterület egymással párhuzamosan fejlődött.

A *Fejlődésbiológia I.* című könyv – amely 1997-ben jelent meg a Felsőoktatási Tankönyv- és Könyvtárogatási Pályázatok Kuratóriuma támogatásával, a Pro Pannonia Kiadó Alapítvány kiadásában, a Pannonia Könyvek Szerkesztőségének gondozásában – részletes áttekintést ad a kétéltűek, a rovarok és az emlősök, így az ember egyedfejlődéséről, az ivarsejtek kialakulásától kezdve az életképes egyedek kifejlődéséig. A könyv szerzői 381 oldal terjedelemben foglalják össze ezen folyamatokat. Az

oldalakat lapozva az olvasó (illetve a diák) észreveheti, hogy a különböző fejezeteket más-más szerzők írták, így azok stílusa kis mértékben eltér egymástól. E stílusbeli heterogenitás nem zavaró ugyan, mégis észrevehető.

A kiadványt szerzői egyetemi tankönyvnek szánták, (szerintem az ELTE vagy más tudományegyetem természettudományi karának számára). Ennek megfelelően az élővilág több törzsének egyedfejlődése követhető nyomon, és így – a könyv paralel szerkesztésének köszönhetően – lehetőség nyílik arra is, hogy meglássuk az ezen törzsek közötti különbségeket.

A szerzők a bevezető részben összefoglalják az egyes szaporodási módokat, az ivartalan és az ivaros szaporodási fajtákat, majd ezen bevezető rész után rátérnek az ivarsejtek kialakulásának, az egyedfejlődés szakaszainak ismertetésére. A könyv főbb fejezetei, egységei a következők: az egyedfejlődés szakaszai, az ivarsejtek képződése, a hím ivarsejt, valamint a női ivarsejt és a hozzá kapcsolódó szervek kialakulása (mely utóbbi, bonyolultságának köszönhetően sokkal nagyobb helyet kap az előbbinél). E fejezeten belül összehasonlításra kerülnek a rovarok, az emlősök és a kétéltűek nemi szerveinek kialakulásai, valamint a bennük lejátszódó folyamatokat szabályozó hormonális működések. Az ezt követő fejezetek a megtermékenyítésről, annak egy speciális formájáról, a szűznemzésről (ami külön fejezetet kap), a barázdálódásról, az embrió polarizációjáról, a csíralemezek kialakulásáról szólnak meglehetősen részletességgel. Ezt követi az ember külső testformája kialakulásának, a morfogenezis celluláris alapjainak, a szervek és szervrendszerek fejlődésének (ezen belül a csont-

rendszer, az izomrendszer, az emésztőkészülék, a légzőrendszer, a vér és a keringési rendszer, a húgyivarszervek, a belső elválasztású mirigyek, az idegrendszer és az érzékszervek fejlődésének) leírása.

A könyv színességét, olvasmányosságát növeli, hogy szerzői az egyedfejlődés egyes lépéseinek leírása közben sok esetben kitérnek az oda kapcsolódó és a tanulmányozás során felhasznált kísérleti módszerekre, azaz arra, hogy milyen kísérletek sorozatával vizsgálták ezen folyamatokat, melyek voltak ezen kísérletek első eredményei, milyen biokémiai reakciók állnak az egymást követő lépések mögött.

Minden fejezet végén megtalálhatók az adott fejlődési stádiumokban előforduló fejlődési rendellenességek, kitérve azok lehetséges okaira, megjelenési formáira, valamint előfordulásuk gyakoriságára. A szerzők a latin illetve angol szóhasználatot lényegében minimálisra szorítva, szemléletesen magyarázzák meg a szervek és szervrendszerek kialakulását, így könnyebbé teszik számunkra, hogy feldolgozhassuk magunkban a tananyagot, megértjük az egyes fejlődési folyamatok milyenségét.

Egy esetleges tárgymutató megkönnyítené az olvasó dolgát a könyvben való tájékozódásban, és segítséget jelentene a tanulásban az egyetemi hallgatók számára. A könyv címe (pontosabban az abban jelzett kötet-sorszám) sejteti egy második kötet megírását is, melynek sorsa – tudomásunk szerint – a kiadás finanszírozásán múlik. Bízunk benne, hogy a szükséges pénzügyi háttér az újabb kötet megjelentetésére is előteremthető, s érdeklődve várjuk a folytatást.

Hegedűs Gyöngyvér

Az Európai Membrán Szövetség megbízásából 1999. augusztus 23. és 27. között Veszprémben kerül megrendezésre az ideai Membrános Nyári Egyetem

„Integration of membrane processes into bioconversions”

címmel. Részvételi díj magyarok részére: 25 000 Ft, amely magában foglalja a szállást és teljes ellátást is.

Jelentkezés/információ:

Bélafiné dr. Bakó Katalin
bako@mukki.richem.hu

Dr. Gubicza László
gubicza@mukki.richem.hu

PATE Műszaki Kémiai Kutató Intézet
8200 Veszprém, Egyetem u. 2.
tel.: (88) 421-614 FAX: (88) 424-424
<http://www.richem.hu/rice/events.htm>

Bizonyára a BIODÉKA olvasói közül is többen kerültek már a szívinfarktus közelébe, amikor a küzdelmesen összehozott nemzetközi kollaboráció eredményeként beérkező minták a futárszolgálatok, illetve a vámhivatalok polcain rothadtak el. Egy korábbi lapszámomban (Vámkaland, *Biokémia* XXII, 67, 1998) beszámoltunk arról, hogy a hazai 14 Howard Hughes ösztöndíjas erőfeszítéseinek (és Magyar Bálint akkori művelődési és közoktatási miniszter hathatós támogatásának) köszönhetően Arnold Mihály, a Vám- és Pénzügyőrség országos parancsnoka 1998. június 2-án külön parancsban utasította a hazai vámszerveket, hogy a tudományos kutatás céljára beérkező romlandó anyagokat soron kívül vámkezeljék. Tapasztalataink szerint azonban e kedvező változás ellenére az érkező fehérrék és minták egy része változatlanul olvadtan, néha bűdösen került a kutató asztalára. Mivel a vámosok (néha ugyan figyelmeztetés után) komolyan veszik a legfelsőbb hely parancsait, a gyanú a futárszolgálatokra terelődött, amelyek az elmúlt években oly szorgalmasan kitanulták a csomagfektetés fortélyait, hogy ha rajtuk múlt volna a marathóni csatáról való hírhozás, a hírnök lehet, hogy mára már Budapesten kérdezzetné, hogy merre is van Athén.

A 14 Howard Hughes ösztöndíjas így újra tollat ragadott, és írt a Fogyasztóvédelmi Főfelügyelőhöz egy szép levelet, hogy lenne szíves kivizsgáltatni a magyar futárszolgálatok sebességi viszonyait. A minap megérkezett válasz szerint, amikor a hazai futárszolgálatok szolgáltatásait mintaküldés alkalmával igénybe vesszük, akkor a szakmai tevékenységünkkel kapcsolatban vesszük igénybe, így a törvény szerint nem minősülünk fogyasztónak, mert az csak magánember lehet. Így a Főfelügyelőség ügyünkkel maximálisan egyetértve javasolta, hogy pereljük be a cégeket. Noha az embernek kell az unokáira is gondolnia néha, Kiss Antal javaslatára más utat választottunk.

Írtunk a három legérzékenyebb cég, a Fedex, a TNT és a DHL legfőbb külhoni főnökeinek is egy-egy levelet szóvá téve a hazai áldatlan állapotokat és felvetve azt is, hogy nem biztos, hogy használna cégük imázsának, ha a júliusi budapesti Tudomány Világkonferenciáján a három csigafutár a szegyenpadra lenne ültetve. A következők történtek:

DHL: semmi

TNT: kineveztek egy speciális ügyintézőt, Takács Tímeát (431-3145-os telefon), aki vállalta, hogy bármilyen szárazjeges küldeményt soron kívül kihoz. A TNT a saját gépeivel szállít, így a szárazjég nem probléma.

Fedex: az európai főnök (David W. Slipper, Vice President, Central and Eastern Europe Operations, FAX: 00-32-2-752-7353) írt egy levelet, hogy a Royal Expressnél Ollári Krisztián (FAX: 218-3808, email: royalexp@mail.matav.hu) lett a speciális ügyintézője a tudományos fuvaroknak. Kéri, ha ilyen érkezik, kérjük meg a kinti partnert, hogy küldje el előre a feladás előtt a fuvarlevélszámot. Mi faxoljuk el Ollári Krisztián nevére a vámkezelési megbízást (nyomtatványt kérésre küld) a fuvarlevélszámmal kitöltve. Ilyenkor egy „pre-alert” fog végigfutni a Fedex teljes szervezetén, és mire a csomag tényleg feladásra kerül, garantálják az itthoni egy napon belüli kiszállítást. Ígéretet kaptunk arra is, hogy a szárazjeges fuvarokkal sem lesz annyi hercehurca, mint a múltban volt. Ha esetleg a Royal Expresszel nem lehetne dűlőre jutni, a kérdéssel foglalkozó speciális kinti ügynök: Ronnie O'Shee (FAX: 00-32-2-752-7263; email: roshee@fedex.com).

Kérjük tagtársainkat, próbálkozzanak (azért kezdetben csak gyufát, esetleg faggyúgyertyát tartalmazó csomagokkal...), és értesítsenek ha sikeres, vagy sikertelen események örvendő, illetve szenvedő alanyai lesznek.

Csermely Péter

10th Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference

August 28 – September 1, 2000, Budapest, Hungary



CONFERENCE TOPICS

- Molecular, biochemical and physiological aspects of host-pathogen interactions
- Population diversity and dynamics
- Resistance genetics and breeding
- Epidemics and disease management

SCIENTIFIC CORRESPONDANCE

Registration deadline: August 31, 1999

Dr. Balázs Barna, D.Sc.

Plant Protection Institute,

Hungarian Academy of Sciences

H-1525 Budapest, P.O.Box 102, Hungary

Phone: (36-1) 355 8722 / ext. 234 Fax: (36-1) 356 3698

E-mail: bbar@planta.nki.hu

<http://www.nki.hu/rust>

Talajaink védelme egészségünk záloga?

Beszámoló az MTA TAKI „Nehézfémek a környezetben” c. ankétról

A Magyar Tudományos Akadémia Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete 1999-ben ünnepli alapításának 50. évfordulóját. Az ünnepi megemlékezések mellett, ez év februárjában került megrendezésre az MTA TAKI tudományos ülésorozatának harmadik rendezvénye „Nehézfémek a környezetben” címmel. A tudományos ülés 1996-ban a nitrogén és 1997-ben a foszfor témaköröket követően idén a talajok potenciálisan legveszélyesebb szennyezőivel, a nehézfémekkel foglalkozott.

Az ankét 15 előadása felölelte a talajok nehézfém-szennyezésével foglalkozó hazai kutatások széles skáláját. A fórum előadásai szóltak a nehézfém-szennyezések lehetséges forrásairól, a szennyeztség fokának megállapítását szolgáló hagyományos és pontosabb adatokat adó új módszerekről, a nehézfémek talaj-növény-állat táplálékláncban való mozgásáról, esetleges akkumulációjáról, valamint a terhelt talajok szennyeztségét enyhítő és egyben környezetkímélő fitoremediációs módszerekről.

A bioszféra nehézfémterhelése az elmúlt évtizedekben többszörösére nőtt. A környezet szennyezése egyidős az emberrel, míg a környezetvédelem fogalma és intézményei újkeletűek. A demográfiai terhelés, az ember tevékenysége – az ipar, a növény- és állattenyésztés – révén helyi és regionális változásokat idéz elő a környezetben. A antropogén, káros környezeti hatások napjainkra globális méretűvé váltak. Az emberi természettől idegen hatások túl gyakoriak, ezzel szemben a környezet regenerálódása nagyon lassú folyamat. Sajnos az emberi tevékenységeket elsősorban a rövid távú termelési és piaci előnyök irányították régen is és ma is, figyelmen kívül hagyva azt a tényt, hogy a bioszféra tisztítása végső soron az ember fejlődési és egészségügyi feltételeit veszélyezteti. A magunk és a bennünket körülvevő élővilág érdekében szükség van környezetkímélő, környezetvédő és környezetet regeneráló módszerek kidolgozására. E kutatásoknak fel kell mérniük a nehézfémek forrásait, a szennyeztség nagyságrendjét, esetleges akkumulációjának helyét és időbeni alakulását, s emellett megoldást kellene találniuk a terhelés enyhítésére illetve megszüntetésére.



Az MTA TAKI szervezésében megrendezett egész napos fórumon a szakma legavatottabb képviselői számoltak be a

hazai nehézfémkutatással kapcsolatos legújabb eredményekről. Az ülést *Németh Tamás*, az MTA TAKI igazgatója nyitotta meg, ezután *Kovács Ferenc* akadémikus mondott ünnepélyes köszöntőt és méltatta az 50. születésnapját ünneplő intézet eddigi tudományos tevékenységét. Az MTA TAKI öt évtizedes kísérleti tevékenysége, agrokémiai kutatási tapasztalata, szellemi potenciálja meghatározó a hazai talajtani kutatások terén. A plenáris előadásokon *Németh Tamás* és *Filep György* elnökölt.

Az előadások elsősorban a legveszélyesebbnek ítélt nehézfémek, a kadmium, a nikkel, az ólom, a higany és a króm talajbeni megjelenésével, mozgásával és toxicitásával foglalkozott. Az előadásokból kitűnt, hogy egy-egy nehézfém toxicitásának megítélése rendkívül problematikus feladat. A toxicitást sok egymástól sem független abiotikus és biotikus tényező határozza meg. Az adott fém koncentrációja, ionállapota, a rendszerben lévő más elemek jelenléte vagy hiánya, kémiai reakcióik, az élő szervezetekkel való érintkezés és a bejutás körülményei, az akkumuláció befolyásolják a toxicitást. A toxicitás viszonylagos volta tükröződik az egyes szervezetekre, talajokra, élelmiszerekre stb. megállapított határkoncentrációk relatív jellegében is.

A nemkívánatos elemek forgalmát egységes metodikával kell vizsgálni, hogy a kapott eredmények összehasonlíthatóak és szintetizálhatóak legyenek. Számos kutató számolt be tenyészdedény és szabadföldi nehézfém-szennyezett talajokban termesztett növények, növényi részek fémkoncentrációinak alakulásáról. A nagyszámú vizsgálatból sikerült adatokat kapnunk főbb szántóföldi kultúrnövényeink nehézfém-összetételéről (búza, kukorica, napraforgó stb.). A növények különböző védekezési mechanizmusokat „dolgoztak ki” a nehézfémekkel szemben, pl. a nehézfémfelvétel csökkentésével, a fémek leadásával, a szervezeten belüli vagy azon kívüli immobilizálásával. A legkezdetele-

gesebb védekezési mód a toxikus fémek akkumulálása, a felhalmozás történhet sejtfalhoz, illetve a vakuólumokban szerves savakhoz kötve vagy oldhatatlan só formában. Termesztett növényeink közül pl. a sóska, spenót, saláta a *Chenopodiaceae* és *Brassicaceae* növénycsaládok fajai nagy mennyiségben képesek a Ni és Cd fémeket akkumulálni.

Gabonanövényeink közül a kukorica hajtásában viszonylag nagy mennyiségben vesz fel nehézfémeket, de ezek többségét gyökerében visszatartja. A legtöbb növénynél a gyökér, mint a nehézfémek szűrője viselkedik, meggátolja a fémek hajtásba történő transzlokációját.

Ebből adódóan nem szabad figyelmen kívül hagyni, hogy mennyit fogyasztunk azokból a növényekből, melyek talajban növekvő része hasznosítható (sárgarépa, hagyma, burgonya). Új talaj- és környezetkímélő módszereket tehát nemcsak talajvédelmi, de humán egészségügyi szempontból is szükséges kidolgozni a szennyezések mérséklése érdekében. Az új utak egyike lehet a fitoremediáció. A fitoremediációs kutatások több aspektusával is foglalkoztak előadások. A növényekkel vagy növényeken keresztül történő „meggyógyítás” olcsó, talajt kímélő, másodlagos szennyezéstől mentes módszer. Hátránya, hogy időigényes, és csak mérsékelt szennyezett talajoknál alkalmazható. A legígéretesebbnek tűnő helyreállítási technológia a fitoextrakció. Nehézfémeket akkumuláló növényfajok telepítésével, a talajokból a fémek kivonhatók. A módszer hátulütője, hogy a fémeket felhalmozó növények biomassza-produkciója kicsi, és meg kell oldani a learatott növényi hulladék elhelyezését. A jövő mezőgazdasága szempontjából igen nagy jelentősége lehet a növény-gomba mutualista együttélések, a mikorrhizák tudományos alapokon nyug-

vó, szakszerű kutatásának. Számos irodalmi adat igazolja, hogy ez a kölcsönös előnyökön alapuló szimbiózis nagyobb fémtoleranciát biztosít a növénypartner számára. Igaz ugyan, hogy a fémtoleráns mikorrhiza gombák alkalmazása révén a talajok nehézfém-tartalma nem, vagy csak kis mértékben csökken, ugyanakkor a táplálékláncba kisebb mértékben kerülnek be a fémek, amely mérsékelheti a fogyasztók veszélyeztetettségét.

Sajnos a talajokba került nehézfémek a növényeken keresztül bejutnak a táplálékláncba, ahol az állatok, végül az ember egészségi állapotát veszélyeztetik. Az MTA TAKI nagyhorcsóki kísérleti telepén, 13 nehézfémrel, 1991-ben beállított tartamkísérlet növényeit nyulakkal etetve hasznos információkat kaptunk az állati szervek fémtartalmának alakulásáról. A kísérleti állatok veséjének, májának, szívének, tüdejének és vázizmának analízise alapján megállapítható volt, hogy a vizsgált fémek Cd, Se, Hg, Pb, Mo mennyiségi sorrendben raktározódnak a szervezetben, elsősorban a kiválasztás szerveiben. Ezen szervezetbe kerülő nehézfémeknek csak kis hányada ürül ki a vizelettel és a bélsárral. A Cd, Pb és Hg a hím állatok spermiogenezisét is gátolta. A „Nehézfémek a környezetben” című ankét általános, átfogó képet adott, és a résztvevők számára hasznos információkkal szolgált az adott témában. Összefoglalta a környezetszennyezés forrásait, a növényi fémfelvétel szerepét és néhány kiemelt fontosságú toxikus elem viselkedését a talaj-növény-állat rendszerben. E helyen szeretnénk köszönetet mondani az MTA TAKI dolgozóinak, a rendezvény szervezőinek és résztvevőinek, hogy munkájukkal, kísérleti eredményeikkel hozzájárultak egy tudományos szempontból sikeres ülés lebonyolításához.

Takács Tünde



A *Biochemical Education* folyóirat 1999. évi 27 (1) és (2) számai az *IUBMB Education Committee* ajándékaiként megérkeztek a DOTE Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetébe (4012 Debrecen, Pf.6, tel./fax: 52/416 432). A számok tartalomjegyzékei egyebek között a

<http://www.elsevier.nl/inca/publications/store/6/0/4/> és a

<http://www.hbz-nrw.de/elsevier/03074412/> internet címeken megtekinthetők.

Az egyes közlemények másolatát az intézet szívesen megküldi az érdeklődő kollégáknak.

Dr. Fésüs László

Biokémiai és molekuláris biológiai ismeretek a növénykórtanban

Gáborjányi Richard, Érsek Tibor (Szerk.): NÖVÉNYKÓROKOZÓ MIKRO- ORGANIZMUSOK

(Könyvismertetés)

ELTE Eötvös Kiadó, Budapest, 1998

Nemrégiben jelent meg az ELTE Eötvös Kiadó gondozásában Érsek Tibor és Gáborjányi Richard (szerkesztők) „Növénykórokozó mikroorganizmusok” című egyetemi tankönyve. Egyéni felépítésű munkáról van szó: nem a szokásos, sematikus bevezetéssel kezdik a növénykórtan minden területét felölelő, 284 oldalas összeállítást, hanem mintegy esszenciáját adják az első fejezetben (Gáborjányi Richard) az egészséges és a beteg növény jellemzőinek. A prológust követi egy mélyebb kórélettani fejtegetés („A kórokozó és a növény kölcsönhatása”, Barna Balázs tollából), amelyben a beteg növény fiziológiájával, a növényi betegség-ellenállóság mechanizmusaival, a hagyományos nemesítési stratégiákkal és a géntechnológia növény-nemesítési alkalmazásával ismerkedünk meg. A harmadik fejezet (Érsek Tibor) a mikroorganizmusok genetikájával foglalkozik. A IV–VI. fejezetekben a növénypatogén vírusok, viroidok és fitoplazmák jellemzőivel ismerteti meg olvasóit a szerző (Gáborjányi Richard), ami különösen azért dicséretes vállalkozás, mert a viroidokról és a fitoplazmákról méltánytalanul kevés ismeret áll rendelkezésünkre. A „Baktériumok” c. fejezetben éreztem leginkább: nemcsak tankönyv ez a mű, hanem vállalkozik a legújabb, részben még nem is publikált kutatási eredmények bemutatására. Nyugodtan ajánlható posztgraduális képzés anyagául is a növénybaktérium kölcsönhatás molekuláris szintű tárgyalása (Klement Zoltán), a hiperszenzitív reakcióról készült kitűnő, szemléletes ábraanyag pedig a téma kutatóinak gondolatébresztő, ötletadó forrásként szolgálhat. Fiatal ember (Ott Péter) vállalkozott a fitopatogén baktériumok általános bemutatására; feladatát jó arányérzékkel oldotta meg.

A „Mikroszkopikus gombák” fejezetet öten írták (Érsek Tibor, Kiss Levente, Szécsi Árpád, Turóczy György, Vajna László). A növénykórokozó gombák általános jellemzése után sort kerítenek a gombák



törzsfelődési rendszerének bemutatására, a jelentősebb fajok részletes ismertetésére. Külön alfejezet foglalkozik a molekuláris genetikai és a molekuláris taxonómiai kérdésekkel – e két, a nemzetközi tudományos világban nagy erővel kutatott témakörrel. A mikotoxinoknak is szentel-

tek néhány gondolatot, nagyon helyesen, hiszen korunk egyik legalattomosabb ártalmáról szintén meglehetősen elnagyolt ismereteink vannak csupán.

Szép kezdeményezés, izgalmas esettanulmányok bemutatásával megoldott fejezet a kóroktani kérdésekkel foglalkozó rész (IX. fejezet – Vajna László). A biológiai védekezés nagy sláger volt a földkerekség szegényebb régióiban, ahol nem jutott pénz a kémiai védekezésre. Amatőr környezetvédők is felkarolták, mint a vegyszeres védekezéssel szemben felmutatható alternatívát, ennél fogva sok túlzó megállapítás, indokolatlan várakozás kísérte ezt az egyébként izgalmas és ígéretes irányzatot. Azok azonban, akik túl sokat vártak vagy túl sokat ígértek a biológiai növényvédelemről szólva, azok csalódtak vagy csalatkozást keltettek. Turóczy György jó ízléssel helyezte el ezt a védekezési lehetőséget az integrált technológiák keretében, amiért elismerés illeti.

Meggyőződésem, hogy a „Növénykórokozó mikroorganizmusok” hiánypótló munka, és nagyon örülök, hogy patinás tudománygyetemünk karolta fel az igényes növénykórtani tankönyvkiadás ügyét. Kívánatos lenne, hogy minden hazai egyetemen, az agrár-felsőoktatásban éppen úgy, mint más, a növénykórtan és az alkalmazott mikrobiológia ügyét szíven viselő felsőoktatási intézményben ajánlott oktatási anyagként fogadják ezt a művet.

Hornok László

Venetianer Pál: A DNS SZÉP ÚJ VILÁGA

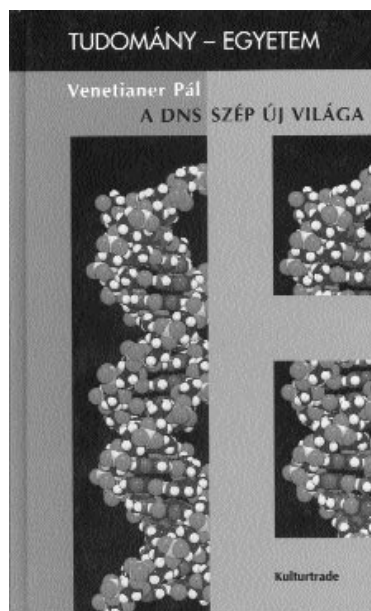
A tudomány második bűnbeesése
(Könyvismertetés)

Kulturtrade Kiadó, Budapest, 1998

„Ha genetikusan manipulált növényeket eszünk, össze-
megy az agyunk” – közli ebéd közben tizenhárom
éves Anna lányom. Leveseskanállal a kezemben,
egy pillanatra megdermedek attól, hogy ilyen köz-
vetlen testközben robban a taposóakna, s mielőtt
beszélgetni kezdenék a témáról, elgondolkozom
azon, mi mindennek kellett történnie ahhoz, hogy a
„Bizonyos génekkel módosított növények (burgonya)
esetében felmerül annak a gyanúja, hogy egyes tesztálla-
tokon fejlődési rendellenességeket okozhatnak. E gyanú
igazolásához további vizsgálatok szükségesek.” óvatos
kétkedésből a fenti kijelentés magabiztossága
váljék. Hány csatornán, és hányféleképpen módo-
sulva kellett áthaladnia, míg végül megszólalt a
maga ártatlan egyszerűségében egy gyereklány
száján, egy olyan gyereklányén, aki jószerivel még
azt sem tanulta, mi is a *gén*.

A legelső gondolatom közhely: az írástudó felelős-
sége, tudósé és tudósítóé egyaránt. Hiszen miért is
lenne szükséges, hogy a géntechnológiáról véle-
ményt mondó laikus közvélemény pontosan ismer-
je a genetikának akár alapfogalmait is? Dürrenmatt
hasonlatával élve, alapfokú ismeretek sem kellenek
az elektromosságról ahhoz, hogy felkattintsunk
egy villanykapcsolót. Persze jobb, ha vannak, de
nem szükségesek. Elengedhetetlen azonban, hogy
tudományosan és gyakorlati értelemben is mega-
lapozott legyen a technológia kidolgozása, vala-
mint az (mely az előbbinél nem kevésbé jelentős el-
várás), hogy hozzáértők és felelősen megfontoltak
legyenek azok, akik a közvéleményt a technoló-
giáról tájékoztatják.

A biotechnológia olyan modern eszköz a társada-
lom kezében, amely látványos – és látványosan
gyors – fejlődése mellett, vagy éppen e fejlődés
okán, számtalan új morális és jogi ellentmondást is
felvetett. S e kérdések még fontosabbakká váltak,
mióta e módszertan kilépett a laboratóriumokból, s
mindennapi életünk részévé vált. Innentől kezdve



a laikusnak is
joga van véle-
ményt monda-
ni róla, hiszen a
géntechnológia
eredményei – jó
és rossz egyaránt
– az ő életébe is
közvetlenül be-
épültek. Ebben
a helyzetben
döntő jelentő-
ségű, hogy a
hozzá nem értő
érdeklődő tudó-
mányos és mo-
rális értelemben
egyaránt mega-
lapozott és kö-

rültekintő tájékoztatást kaphasson, olyan tájékoz-
tatást, amelyből kérdéseire őszinte és meggyőző
(divatos szóval hiteles) válaszokat kaphat. Ilyen for-
rásnak tekintem Venetianer Pál „A DNS szép új vilá-
ga” című könyvét, mely a Kulturtrade Kiadó Tudó-
mány – Egyetem sorozatában jelent meg 1998-ban.

A könyv fejezetei a géntechnológiával kapcsolatos
egy-egy kérdésköröket járnak körbe, a gensebészeti
eljárások révén felmerülő tudományos, evolúciós,
alkalmazásbiztonsági, vallási vagy jogi szempon-
toktól a klónozásig vagy éppen a genetikailag mó-
dosított élőlények létrehozásának problematiká-
jáig. E fejezetek – nyilván tudatosan – önálló tanul-
mányoknak is tekinthetők, vagyis a könyvből külön-
külön kiragadva is helytállóak. Emiatt bizonyos
megállapítások esetenként ismétlődően előkerül-
nek az egyes fejezetekben, ami azonban nem csök-
kenti az olvasmányosságot, sokkal inkább aláhúzza
e szempontok jelentőségét. Impozáns a szerző
tájékozottsága és naprakész ismeretanyaga, mely a
szakmai felkészültségen (igényes tudományos ismeretterjesztő tárgyú műnél ez eleve alapköve-
telmény) túl a területet övező közéleti és tömeg-
tájékoztatói kérdésekre is kiterjed. S nem kevésbé
szerencsés összetevő, hogy e magas szintű fel-
készültség olvasmányossággal, stílusgazdagsággal
és irodalmi-filozófiai utalások bőséges tárházával is
párosul.

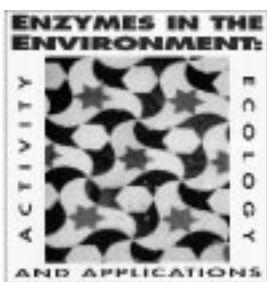
A tematikus gazdagságból ehelyütt nem elsősorban tudományos, sokkal inkább társadalmi jellegű problematikát emelnék ki, mely az utóbbi időben mind nagyobb közéleti jelentőséget kap, s amelyre a bevezetőmben is utaltam. Hogyan változik a tudományos kutató helyzete, szerepe napjainkban, amikor közvetlenül és esetenként kiküszöbölhetetlenül érdekeltté válik egyrészt önnön kutatósainak finanszírozási és alkalmazási kérdéseiben, másrészt a tudományterület publicitásában, a közvélemény tájékoztatásában. E tekintetben különösen elgondolkodtató a könyv utolsó fejezete, mely a tudomány és a tudományos kutató társadalmi megítélésével foglalkozik. A tudós képe a közvéleményben természetesen leegyszerűsítő kép, kiváltképp, ha az „átlagvélemény” szintjén kívánjuk megfogalmazni. A hollywoodi filmipar (mint a társadalmi közvélemény sajátos szociológiai hőmérője) e tekintetben szomorú tendenciát mutat, melyben a szórakozott, az életben botladozó, ámde szimpatikus professzor kliséje gyakorta átadja helyét a jobb esetben naivitása miatt kataklizmát útjára indító, rosszabb esetben gonosz, az ismereteivel tudatosan visszaélő tudósénak. Ennek kapcsán Venetianer Pál egyenesen válsághelyzetet említ, amelyben döntő fontosságúvá válik, hogy a kutatás – afféle tudományos PR tevékenység szintjén – párbeszédet tartson fenn a társadalommal, s hogy a technológia alkalmazási kockázatait felelősen és a társadalom számára is meggyőző módon tárja fel.

Ez az a pont, ahol az értékelőnek ki kell lépnie a konkrét tudományterület, sőt akár a tudomány kezei közül. Kétélű fegyver ez, amint azt a könyvben is olvashatjuk, hiszen a kutató álláspontját esetleg fenntartásokkal fogadó társadalom negatívan reagálhat arra is, ha a kutató kérdéses esetben enyhíteni igyekszik az aggályokat („Na persze, védi a saját érdekeit.”), de arra is, ha elismeri a technológia kockázatait („Micsoda veszélyforrás lehet, ha még ők is beismerik.”). A könyv – számomra legalábbis – meggyőzően érvel amellett, hogy a géntechnológia evolúciós/ökológiai értelemben nem jelent komoly veszélyforrást (legalábbis nem komolyabbat a „hagyományos” technológiáknál). Gondolatmenetében számos érvre támaszkodik, melyek közül kettőt említenék: (a) a géntechnológiai úton kialakított új szervezetek elviekben nem különböznek a nemesítéssel létrehozottaktól, csupán hatékonyabb eszköz áll rendelkezésünkre e

szervezetek kialakításában; (b) a génebeszeti úton „nemesített” élőlények csupán egy-egy adott tulajdonságra nézve kedvezőbbek a vadon élő fajtársaiknál, evolúciós értelemben azonban alulmaradnak, ha a szabadba kijutva versengeni kényszerülnek velük a túlélésért. Amiről azonban nem, pontosabban csupán érintőlegesen esik szó, az egy lényegesen tágabb társadalmi-ökológiai ellentmondás: közgazdasági szemléletünk és életmódunk miatt egy saját (ember nélküli) egyensúlyától eltérő állapotot kényszerítünk a természetre, ami miatt – a korábbi tapasztalatok birtokában állíthatjuk – biztos számíthatunk az eredeti állapot visszaállása felé mutató, vagyis számunkra káros, ámde előre megjósolhatatlan visszahatásokra. A környezeti károk egyik definíciója (milyen költséges lenne az eredeti állapot visszaállítása) alapján azt mondhatjuk, egy technológia annál veszélyesebb a környezetre, minél nehezebben elhárítható visszahatásokat produkál. Ha igaz az, hogy egy bonyolultabb, mélyebb (ez esetben genetikai) szintű beavatkozás nehezebben átlátható, és adott esetben nehezebben elhárítható válaszreakciókat indukálhat a természetben a hagyományos módszereknél, akkor a mezőgazdasági biotechnológia nem feltétlenül kedvezőbb a környezetre nézve a hagyományos növényvédelemnél. E kérdés azonban meglehetősen hipotetikus, mondhatni filozófiai, hiszen alapvetően kívül mutat a biotechnológia, sőt az élettudományok területéről, s egyben aligha valószínű, hogy e belátás alapján az emberi civilizáció változtatna önnön életmódján. Ami eszközünk megmarad tehát, az a tárgyilagos, tudományos kockázatbecslés. A szerző vállalja ugyan ebben önnön szakmai elfogultságát (hogyan is lehetne a géntechnológia művelője, ha alapjaiban elítélné azt?), de pártatlan ismertetésre törekszik, s ezt érzésem szerint sikeresen meg is valósítja. Napjaink szomorú valósága, hogy ez a kijelentés dicséretnek hangzik, holott valójában alapvető elvárásnak kellene lennie minden közvélemény-formáló ismertetéssel szemben.

Venetianer Pál könyve rendkívül igényes színfolt napjaink szenzációvadász és újságírói fogásoktól korántsem mentes hangulata közepette. A könyv magas szintű tájékoztatást, s emellett érdekes és izgalmas olvasmányélményt nyújt, hozzáértőnek és érdeklődő laikusnak egyaránt. Olvasójaként megköszönöm ezt az élményt.

Székács András



ENZYMES IN THE ENVIRONMENT

Activity, Ecology
and Applications
Granada, Spain
July 12–16, 1999

SCIENTIFIC PROGRAM

The conference will highlight new frontiers in enzymology which include the following:

- Biochemistry and ecology of enzymes in the environment (J. Ladd, Australia)
- Functionality of enzymes in soils (P. Nannipieri, Italy)
- Aquatic microbial ecology of ectoenzymes (R.J. Chrost, Poland; H.G. Hoppe, Germany; G.J. Herndl, Netherlands)
- Functional perturbations in the rhizosphere and enzymes (J.M. Lynch, UK)
- Enzymes at the solid/liquid interface (L. Gianfreda, Italy)
- Enzyme dynamics in litter decomposition (R. Sinsabaugh, USA)
- Environmental ecosensors (T. Speir, New Zealand)
- Bioremediation of polluted soils with enzyme technologies (W.T. Frankenberger, Jr., USA; M.J. Bollag, USA)
- Enzyme methodologies (M.A. Tabatabai, USA)
- Science and technologies of enzymology in the 21st Century (R.G. Burns, UK)

APPLICATIONS

This will be an important emphasis of the conference because of the many new exciting possibilities for the use of enzymology to understand microbial ecology, to provide useful solutions to environmental pollution remediation, and as sensors of ecosystem stress, eco-toxicity and soil quality. The conference is designed for interaction across diverse disciplines of microbiologists/biochemists, and terrestrial and aquatic scientists involved in microbial ecology, bioremediation, or agriculture/forestry which rarely (ever?) happens.

ORGANIZING COMMITTEE

Prof. José M. Barea, Es. Exp. del Zaidin, CSIC, Spain
Prof. Richard Burns, University of Kent at Canterbury, UK
Prof. Richard P. Dick, Oregon State University, USA
Dr. Koichi Hayano, Nat. Inst. Agro-Environ. Sci., Japan
Dr. Paul Jones, Inst. Environ. Sci. & Res., LTD, NZ
Dr. Annelise Kjrrler, University of Copenhagen, Denmark
Prof. James M. Lynch, University of Surrey, UK
Dr. Jürgen Marxsen, Max-Planck-Institut, Schlitz, Germany
Prof. Paolo Nannipieri, Università degli Studi di Firenze, Italy
Dr. Tom Speir, Inst. Environ. Sci. & Res., LTD, NZ

PROGRAM INFORMATION

Dr. Richard P. Dick
Dept. of Crop and Soil Science
Oregon State University, 3017 ALS, Corvallis, OR 97331-7306 USA
Tel. 1-541-737-5718 Fax: 1-541-737-5725
e-mail: Richard.Dick@orst.edu



The 3rd Annual European Conference on Micro & Nanoscale Technology for the Biosciences

November 30 – December 2, 1999

Short Course on Microsystems Technology and Microfluidics

November 28 – 29, 1999

Montreux Palace Hotel – Switzerland

Conference Topics

Separation Science & Detection

- Capillary electromigration and electrophoresis
- Nanoelectrospray mass spectrometry
- Single cell analysis
- Protein characterization: proteomics
- Fast DNA sequencing: genomics
- High throughput microchannel approaches

Molecular Diagnostics

- Biochip arrays
- Immunosensors
- Genosensors

- Biochemical marker profiling
- Clinical diagnostics

Other Application Areas

- Combinatorial synthesis
- Drug screening
- Biomolecular surface interactions
- Biomolecular patterning of surfaces

Engineering & Micro Fabrication Technology

- Sample handling
- Microchannel technologies
- Microdispensing
- Micromoulding

Announcement & Call for Papers

Deadline: Aug. 2, 1999



NanoTech 99 address:

Conference Coordination Office, Av. de Provence, CH - 1000 Lausanne 20, Switzerland
Phone: +41 21 626 46 30; Fax: +41 21 624 15 49 E-mail: symposia@nanotech99.com
<http://www.nanotech99.com>