

BIOKÉMIA

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

Szerkesztőbizottság:

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

Felelős szerkesztő:

SZÉKÁCS ANDRÁS

XXVII. ÉVF. 3. SZÁM

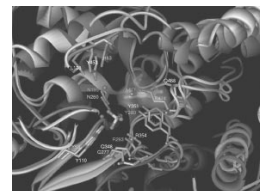
2003. SZEPTEMBER

A tartalomból:

- ◇ Az összetett anyag felé: tervezett és kiválogatódott önszerveződő rendszerek – *Jean-Marie Lehn*
- ◇ Újabb eredmények a szintetikus biokatalízis terén: a fenil-alanin ammónia-liáz reakció vizsgálata és alkalmazása – *Poppe László és Rétey János*
- ◇ Fiatal Biotechnológusok Nívódíja – *Nyeste László*
- ◇ Biotechnológia és környezetvédelem – *Sz. Kükedi Gabriella*
- ◇ *SuperArray* – Olcsó chiptechnika – *Holló Róbert*

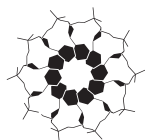
Címlapkép:

A hisztidin ammónia-liáz kísérleti szerkezetéből nyert aktív centrum modell összehasonlítása a fenil-alanin ammónia-liáz homológiamodellezzel nyert aktív centrum modelljével. (Az ábrát az EJB engedélyével a Röther, D., Poppe, L., Morlock, G., Viergutz, S., Rétey, J. (2002) An active site homology model of phenylalanine ammonia-lyase from Petroselinum crispum, Eur. J. Biochem., 269: 3065–3075. cikkből vettük át; ld. a vonatkozó közleményt az 57–64. oldalakon.)



Contents:

- ◇ Steps towards complex matter: self-organization by design and by selection – *Jean-Marie Lehn*
- ◇ Recent results in synthetic biocatalysis: study and application of the phenylalanine ammonia-lyase reaction – *László Poppe and János Rétey*
- ◇ Award for Young Biotechnologists – *László Nyeste*
- ◇ Biotechnology and environmental protection – *Gabriella Sz. Kükedi*
- ◇ *SuperArray* – low-cost chip technology – *Róbert Holló*



MAGYAR
BIOKÉMIAI
EGYESÜLET

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

e-mail: biokemia@nki.hu <http://www.webio.hu/biokemia>

Felelős kiadó: Dr. Friedrich Péter

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

Készíti és terjeszti a **dART studio** (1137 Budapest, Újpesti rakpart 6. Tel.: 349-3426)

Ára • a Magyar Biokémiai Egyesület tagjai részére: tagdíj ellenében,
• nem egyesületi tagoknak: 680 Ft + postaköltség

WEBio
BioScience Portal

Construct BAC or Fosmid Libraries of Clones That Are Inducible to High Copy Number



with CopyControl™ Cloning Kits

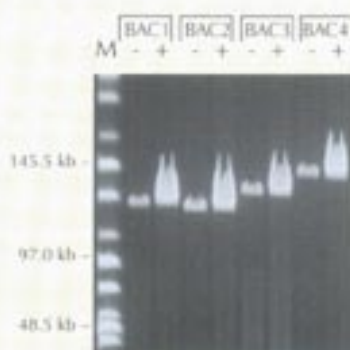
from EPICENTRE

EPICENTRE's CopyControl™ Cloning Kits – based on technology developed in the laboratory of Dr. Waclaw Szybalski¹ – enable the user to construct CopyControl BAC or CopyControl Fosmid libraries of single-copy clones to ensure insert stability and cloning of potentially toxic expressed DNA fragments. Then, whenever desired, the clones can be induced to high-copy number for high yields of DNA for fingerprinting, DNA sequencing and subcloning.

Learn more about the CopyControl cloning technology at www.epicentre.com/cc_tutorial.asp.

CopyControl™ Fosmid Library Production Kit

- Blunt-end cloning process ensures complete and unbiased libraries of >10⁶ clones containing 40-kb inserts.
- Get high yields of DNA when you induce your CopyControl Fosmid clones from single copy to 10-50 copies per cell.
- Construction of a complete fosmid library is much faster and easier than BAC library construction.



CopyControl™ BAC clones can be induced from single-copy to high-copy number for higher yields of DNA. DNA from an equal number of cells of induced (+) and uninduced (-) cultures of 4 CopyControl™ BAC clones was digested with Not I and analyzed by PFGE.

CopyControl™ BAC Cloning Kits

- Induce your CopyControl BAC clones from single copy to 10-20 copies per cell.
- Get high cloning efficiency and low backgrounds using the Cloning-Ready CopyControl pCC1BAC™ Vectors supplied in the kits.
- Kits for cloning BamH I-, EcoR I-, and Hind III- digested genomic DNA are available.

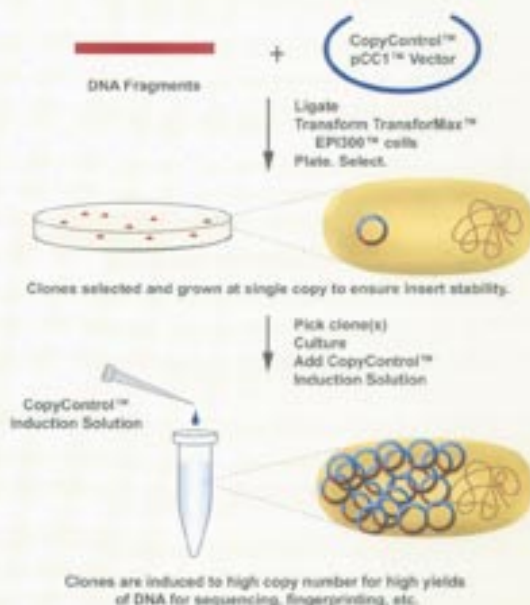
Now, Incorporate CopyControl Capability Into Existing Single-Copy BAC and Fosmid Clones.

Visit www.epicentre.com/transposomics.asp for information.

Reference

1. Wild, J. et al., (2002) *Genome Research* 12, 1434.

www.epicentre.com/ccfos.asp
www.epicentre.com/ccbac.asp
www.epicentre.com/transposomics.asp



CopyControl™ products are covered by U.S. Patent No. 5,874,259 licensed to EPICENTRE and by other patents pending and assigned to EPICENTRE which cover specific vectors, including without limitation, CopyControl™ pCC1™, pCC1BAC™ and pCC1FOS™, and specific cells, including without limitation, TransformMax™ EPI300™. By purchasing CopyControl systems or vectors, the purchaser receives the right to use the product purchased from EPICENTRE or an authorized distributor for life science research.



EPICENTRE™

For the EPICENTRE distributor
in your country, visit

www.epicentre.com

kvalitex

Tudományos, Technológiai, Kereskedelmi Kft. • Scientific, Technological, Trading Ltd.

H-1136 Budapest, Pannónia u. 7. Tel.: (36-1) 340-4700 Tel./fax: (36-1) 339-8274 E-mail: kvalitex@axelero.hu

Az összetett anyag felé: tervezett és kiválogatódott önszerveződő rendszerek

Steps towards complex matter: self-organization by design and by selection*

Jean-Marie Lehn

Université Luis Pasteur, Institut de Science et d'Ingénierie Supramoléculaires, Laboratoire de Chimie Supramoléculaire, 8, allée Gaspard Monge, BP 70028, F-67083 Strasbourg, France;
Tel: +33 390 245144 / Fax: +33 390 245140
E-mail: lehn@isis.u-strasbg.fr

Összefoglalás

A szupramolekuláris kémia – a kovalens kötések alapuló molekuláris kémián túlmutatva – nem kovalens intermolekuláris erőkkel egymáshoz kapcsolódó összetevőkből létrejövő, rendkívül összetett kémiai rendszerekkel foglalkozik. Az elmúlt negyed évszázad során a szupramolekuláris kémia jelentős tudományterületté nőtt, és fontos eredményeket hozott a biológia és a fizika határterületein. E közlemény az ilyen irányú eredményekről és jövőbeli feladatokról ad összefoglalót.

Lehn, J.-M.

Université Luis Pasteur, Institut de Science et d'Ingénierie Supramoléculaires, Laboratoire de Chimie Supramoléculaire, 8, allée Gaspard Monge, BP 70028, F-67083 Strasbourg, France;
Tel: +33 390 245144 / Fax: +33 390 245140
E-mail: lehn@isis.u-strasbg.fr

Summary

Beyond molecular chemistry based on the covalent bond, supramolecular chemistry aims at developing highly complex chemical systems from components interacting through noncovalent intermolecular forces. Over the past quarter century, supramolecular chemistry has grown into a major field and has fueled numerous developments at the interfaces with biology and physics. Some of the conceptual advances and future challenges are profited here.

Noncovalent interactions play critical roles in the biological world. Thus, with just a few building blocks, strands of nucleic acids allow huge amounts of information to be stored, retrieved, and processed *via* weak hydrogen bonds. Similarly, a large array of signaling molecules within cells recognize subtle differences in protein surfaces. Supramolecular chemistry has implemented these principles of molecular information in chemistry. Through manipulation of intermolecular noncovalent interactions, it explores the storage of information at the molecular level and its retrieval, transfer, and processing at the supramolecular level *via* interactional algorithms operating through molecular recognition events based on well-defined interaction patterns (such as hydrogen bonding arrays, sequences of donor and acceptor groups,

and ion coordination sites). Its goal is to gain progressive control over the complex spatial (structural) and temporal (dynamic) features of matter through self-organization [2–6]. This has first involved the design and investigation of preorganized molecular receptors that are capable of binding specific substrates with high efficiency and selectivity.

Three main themes outline the development of supramolecular chemistry. (i) Molecular recognition between artificial receptors and their substrates relies on design and preorganization and implements information storage and processing. (ii) The investigation of self-organization relies on design for inducing the spontaneous but controlled assembly of sophisticated supramolecular architectures. It implements programming and program-

* This paper is a shortened version of [1] that has been the basis of Prof. Lehn's inaugural lecture as a foreign honorary member of the Hungarian Academy of Sciences. The text and the figures are reproduced with permission.

med systems. (iii) The third, emerging, phase introduces adaptation and evolution. It relies on self-organization through selection in addition to design, and implements chemical diversity and "informed" dynamics.

Molecular Recognition

Supramolecular chemistry first harnessed preorganization for the design of tailor-made molecular receptors effecting molecular recognition, catalysis, and transport on a variety of substrates, from metal ions to anions and chiral molecular substrates [2,3]. It also opened new vistas to chemical synthesis, establishing procedures for the construction of supramolecular entities and providing supramolecular assistance to synthesis in which noncovalent positioning of the components is followed by covalent bond formation [2,7–9]. Both areas will continue to provide access to highly sophisticated noncovalent and covalent entities.

Self-Organization

Beyond preorganization lies the design of programmed systems that self-organize through explicit

manipulation of molecular recognition features, thereby directing the buildup from their components of supramolecular species and devices [2,10–16]. Such molecular recognition-directed self-organization has given access to a range of supramolecular entities of truly impressive architectural complexity, making use of hydrogen bonding, donor-acceptor interactions, and metal coordination interactions for controlling the processes and holding the components together. Examples are inorganic and hydrogen-bonded multicomponent entities [7–16] and interlocked mechanically linked compounds [12,17] that would otherwise have been too difficult to construct. In these programmed systems, the components must contain the information required for their assembly into a well-defined supramolecular entity through the operation of specific recognition algorithms. Understanding, inducing, and directing such self processes are key to unraveling the progressive emergence of complex matter. Self-organization is the driving force that led to the evolution of the biological world from inanimate matter [5,6]. The inclusion of dissipative nonequilibrium processes, like those present in the living world, constitutes a major goal and challenge for supramolecular chemistry.



Jean-Marie Lehn was born in Rosheim, France, in 1939. He graduated at the University of Strasbourg in 1960 after having originally enrolled as a philosophy student, and obtained his PhD degree in 1963. Subsequently, he began to work in areas on the frontier between organic and physical chemistry, later taking an interest in biological processes as well: the total synthesis of Vitamin B₁₂, NMR studies of conformational and physico-chemical properties of triterpenes, nitrogen inversion, quadrupolar relaxation, molecular motions and liquid structure, as well as *ab initio* quantum chemical computations of inversion barriers, of electronic structures and later on, of stereoelectronic effects, partly at his home university

and partly at Harvard University. In 1968 he gained international recognition for the synthesis of cryptands, molecules that "capture" ions to create new chemical compounds. With this discovery, he began his work with molecular recognition developing into what he later on termed "supramolecular chemistry", which is at the basis of fundamental biological processes. In 1979, he was elected to the chair of "Chimie des Interactions Moléculaires" at the Collège de France in Paris. New lines of research developed, in particular on combining the recognition, transport and catalytic properties displayed by supramolecular species with the features of organized phases, the long range goal being to design and realize "molecular devices", molecular components that would eventually be able to perform signal and information processing at the molecular level. He is full professor at the University of Strasbourg since 1970, visiting professor at Harvard University (1972, 1974), the ETH. in Zürich, the Universities of Cambridge, Barcelona and Frankfurt. The scientific work he performed over twenty years with about 150 collaborators from over twenty countries has been described in about 450 publications and review papers. Prof. Lehn's research on the chemical basis of molecular recognition, the way in which a receptor molecule recognizes and selectively binds a substrate molecule, was awarded with the 1987 Nobel Prize in Chemistry (shared with D. J. Cram and Charles J. Pedersen). His numerous awards include election as Foreign Associate of the U.S. National Academy of Sciences (1980), the Gold Medal of the CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique, 1981), the Paracelsus Prize of the Swiss Chemical Society (1982), and Medals from Prague (Charles University, 1995) and Warsaw (the Polish Academy of Sciences, 1996). In 2001, he was elected to the Hungarian Academy of Sciences as a foreign honorary member. The present article is based on his inaugural lecture held at HAS on June 18, 2003.

More or less strict programming of the output species may be achieved depending on the robustness of a given directing code (such as hydrogen bonding or metal coordination); that is, on how sensitive it is to internal factors (such as secondary metal coordination or van der Waals stacking) or external factors (such as concentrations and stoichiometries of the components or the presence of foreign species). Sensitivity to perturbations limits the operation range but introduces diversity and adaptability [4] into the self-organization process.

Self-selection with self-recognition occurs when the structural instructions are sufficiently strong, as is the case in the “correct” assembly of helicates (inorganic double helices) from different ligands strands and metal ions (*Figure 1*) [18]. Instructed components can be designed that, as mixtures, allow the controlled assembly of multiple well-defined supramolecular species. The implementation of this “instructed mixture” paradigm is crucial for the development of complex chemical systems, as witnessed by the buildup of organized species and the execution of highly integrated functions taking place side by side in the assembly and operation of the living cell.

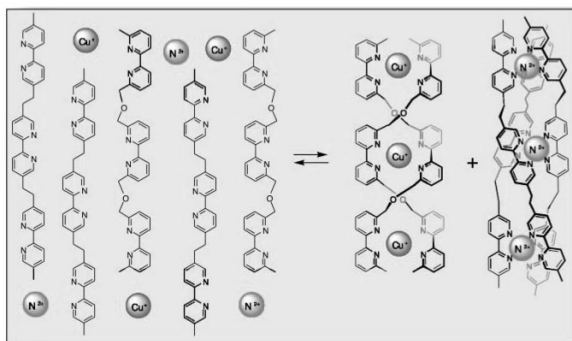


Figure 1. Parallel formation of a double helicate and a triple helicate by self-selection with self-recognition from a mixture of two different suitably instructed ligands and two different types of metal ions that present specific processing/coordination algorithms. Cu^{I} and Ni^{II} have tetrahedral and octahedral coordination, respectively [18]. (Reproduced with permission from [1].)

Because it is a time-dependent process, self-organization also involves temporal information and may display kinetic control, as in the initial assembly of a triple helical complex that evolves toward a cir-

cular helicate [19]. Multilevel hierarchical self-organization enables the progressive buildup of more and more complex systems in a sequential temporally ordered fashion. Such is the case in the formation of discotic liquid crystals by the assembly of “sector”-shaped components into disks, which thereafter organize into columns [20], and in the template-induced wrapping of molecular strands into helical disklike objects, which then aggregate into large supramolecular assemblies [21].

Multiple Self-Organization Processes

Beyond single-code assembly programs, systems of higher complexity operate in multi-mode fashion through the implementation of several codes within the same overall program, resulting in multiple self-organization processes [4,22]. Thus, different metalloarchitectures may be generated from the same ligand when different sets of metal ions are used to read the binding information. For example, two different helicates can be generated from the same strand [4,23], and ligands containing two different subunits can code for the formation of a helicate or of a 2 3 2 gridtype complex (*Figure 2*) [24]. Similarly, differential processing of hydrogen bonding information contained in a molecular strand may yield different supramolecular structures [21].

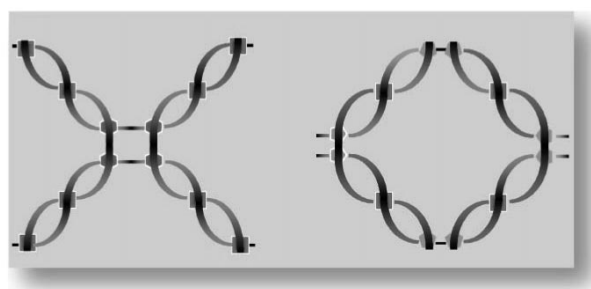


Figure 2. Schematic representation of the two different coordination architectures obtained by enforced processing of the same ligand binding information by two different sets of metal ions with specific coordination geometries/algorithms; squares, pentagons, and hexagons represent tetra-, penta-, and hexacoordinated metal ions, respectively [24]. (Reproduced with permission from [1].)

The multiple processing of the same ligand information by different interaction algorithms allows the controlled generation of different output architectures, resulting in multiple expression of molecular information [22]. Such a one code/several out-

puts scheme could also play an important role in biology. The combination of different recognition/instruction features in a molecular program opens a door to the design of self-organizing systems capable of performing molecular computation [25–27]. Recent studies described the use of biomolecules and DNA-based protocols to solve computational problems [26,27]. An approach making use of specifically designed nonnatural components could provide higher diversity, better resistance to fatigue, and smaller size.

Self-Organization Through Selection

Supramolecular chemistry is dynamic by nature because of the lability of the interactions that connect the molecular components of a supramolecular entity. The reversibility of the associations allows a continuous change in constitution, either by internal rearrangement or by exchange, incorporation, and extrusion of components. Thus, supramolecular chemistry is a constitutional dynamic chemistry (CDC) generating constitutional diversity. It enables selection of a given constituent, made up of a well-defined set of components, from a pool of compounds with all possible constitutions, under the pressure of internal factors (intrinsic stability of the species, as in helicate self-recognition [18]) or external factors (interaction with species in the environment, as in anion binding by circular helicates [28]). CDC may also be molecular; in this case, the components of the molecular entity are linked by covalent bonds that may form and break reversibly.

A specific expression of CDC is dynamic combinatorial chemistry [29–31]. It rests on the dynamic generation of molecular and supramolecular diversity through the reversible connection of covalently or noncovalently linked building blocks, which gives access to the full set of all combinations that may potentially exist. Addition of a receptor displaces the dynamic equilibrium toward the preferential formation of the best-binding constituent, in a target-driven selection of the fittest. This approach opens wide perspectives in a variety of areas of science and technology, such as the discovery of biologically active substances and of new materials.

CDC introduces a paradigm shift with respect to constitutionally static chemistry. The latter relies on

design for the generation of a target entity, whereas CDC takes advantage of dynamic diversity to allow variation and selection [32,33].

The implementation of selection in supramolecular chemistry introduces a fundamental change in outlook. Whereas self-organization by design strives to achieve full control over the output supramolecular entity by explicit programming, self-organization by selection operates on dynamic constitutional diversity in response to either internal or external factors to achieve adaptation in a darwinistic fashion.

Outlook

The combined features of supramolecular systems – information and programmability, dynamics and reversibility, constitution and diversity – are leading toward the emergence of adaptive/evolutionary chemistry [4]. Adaptive chemistry implies selection and growth under time reversibility. It becomes evolutionary chemistry when acquired features are conserved and passed on. Harnessing the power of selection for adaptation and evolution on the molecular scene is ushering in a darwinistic era of chemistry. The ultimate goal is to merge design and selection in self-organization to perform self-design, in which function-driven selection among suitably instructed dynamic species generates the optimal organized and functional entity, in a post-darwinian process.

Beyond programmed systems, the next step in complexity consists in the design of chemical “learning” systems, which are not just instructed but can be trained. The incorporation of time irreversibility implies the passage from closed systems to open and coupled systems that are connected spatially and temporally to their surroundings.

Supramolecular chemistry provides ways and means for progressively unraveling the complexification of matter through self-organization. Together with the corresponding fields in physics and biology, it leads toward a supramolecular science of complex, informed, self-organized evolutionary matter. Through progressive discovery, understanding, and implementation of the rules that govern the evolution from inanimate to animate matter and beyond, we will ultimately acquire the ability to create new forms of complex matter.

References

- [1] Lehn, J.-M. (2002) *Science*, **295**: 2400–2403.
- [2] Lehn, J.-M. (1995) *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives* (VCH, Weinheim, Germany).
- [3] Atwood, J. L., Davies, J. E. D., MacNicol, D. D., Vögtle, F., Lehn, J.-M. (Eds) (1996) In: *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Pergamon, Oxford, 1996).
- [4] Lehn, J.-M. (1999) In: *Supramolecular Science: Where It Is and Where It Is Going* (Ungaro, R., Dalcanele, E., Eds.), (Kluwer, Dordrecht, the Netherlands), pp. 287–304.
- [5] Eigen, M. (1971) *Naturwissenschaften*, **58**: 465.
- [6] Yates, F. E. (Ed.) (1987) In: *Self-Organizing Systems* (Plenum, New York).
- [7] Whitesides, G. M. *et al.* (1995) *Acc. Chem. Res.*, **28**: 37.
- [8] Fyfe, M. C. T., Stoddart, J. F. (1997) *Acc. Chem. Res.*, **30**: 393.
- [9] Prins, L. J., Reinhoudt, D. N., Timmerman, P. (2001) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**: 2382.
- [10] Lehn, J.-M. (1990) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **29**: 1304.
- [11] Whitesides, G. M., Mathias, J. P., Seto, C. T. (1991) *Science* **254**: 1312.
- [12] Philp, D., Stoddart, J. F. (1996) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **35**: 1154.
- [13] Lawrence, D. S., Jiang, T., Levett, M. (1995) *Chem. Rev.*, **95**: 2229.
- [14] Leininger, S., Olenyuk, B., Stang, P. J. (2000) *Chem. Rev.*, **100**: 853.
- [15] Swieger, G. F., Malefsette, T. J. (2000) *Chem. Rev.*, **100**: 3483.
- [16] Lindoy, L. F., Atkinson, I. M. (2000) *Self-Assembly in Supramolecular Systems* (Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK).
- [17] Sauvage, J.-P., Dietrich-Buchecker, C. (Eds.) (1999) *Molecular Catenanes, Rotaxanes and Knots* (Wiley-VCH, Weinheim, Germany).
- [18] Krämer, R., Lehn, J.-M., Marquis-Rigault, A. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**: 5394.
- [19] Hasenknopf, B., Lehn, J.-M., Boumediene, N., Leize, E., Van Dorselaer, A. (1998) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **37**: 3265.
- [20] Suárez, M., Lehn, J.-M., Zimmerman, S. C., Skoulios, A., Heinrich, B. (1998) *J. Am. Chem. Soc.*, **120**: 9526.
- [21] Berl, V., Krische, M. J., Huc, I., Lehn, J.-M., Schmutz, M. (2000) *Chem. Eur. J.*, **6**: 1938.
- [22] Lehn, J.-M. (2000) *Chem. Eur. J.*, **6**: 2097.
- [23] Smith, V., Lehn, J.-M. (1996) *Chem. Commun.*, **1996**: 2733.
- [24] Funeriu, D. P., Lehn, J.-M., Fromm, K. M., Fenske, D. (2000) *Chem. Eur. J.*, **6**: 2103.
- [25] Rothmund, P. W. K. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**: 984.
- [26] Adleman, L. M. (1994) *Science* **266**: 1021.
- [27] Chen, J., Wood, D. H. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**: 1328.
- [28] Hasenknopf, B. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**: 10956.
- [29] Lehn, J.-M. (1999) *Chem. Eur. J.*, **5**: 2455.
- [30] Cousins, G. R. L., Poulsen, S. A., Sanders, J. K. M. (2000) *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **4**: 270.
- [31] Lehn, J.-M., Eliseev, A. (2001) *Science*, **291**: 2331.
- [32] Quinkert, G., Bang, H., Reichert, D. (1996) *Helv. Chim. Acta*, **79**: 1260.
- [33] Orgel, L. (1995) *Acc. Chem. Res.*, **28**: 109.



Az *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (IUBMB) szervezete honlapjának az egyedi metabolizmus mechanizmusok bemutatására szolgáló folyamatábrákat (*minimaps*) bemutató szekciójában (<http://www.tcd.ie/Biochemistry/IUBMB-Nicholson/>)

bővítette sokak számára hasznos szolgáltatását.

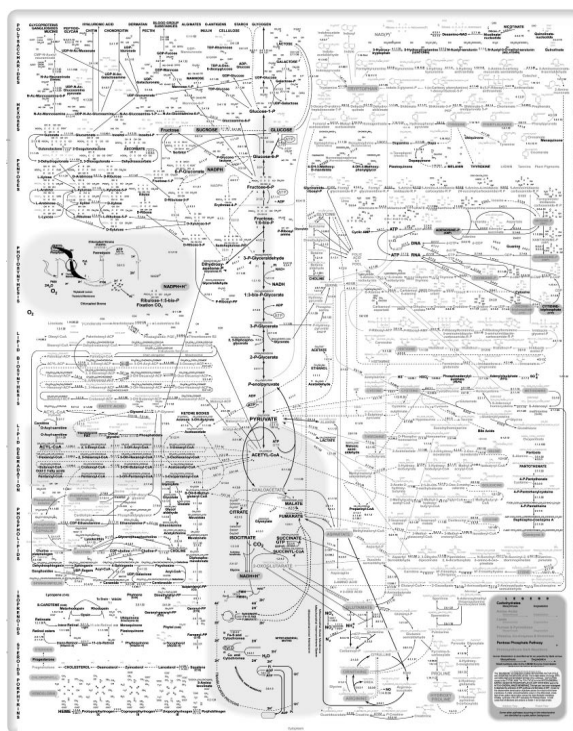
A rovat, melyet az „*IUBMB-Nicholson Metabolic Pathway Charts*” (forgalmazza a Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) szerzője, Donald Nicholson tesz közzé, az alábbi tematikus bontásban ismerteti az élő szervezetekben zajló különféle bioszintetikus és lebontási folyamatsorokat:

The Hub of Metabolism • Lactic and Alcoholic Fermentation • Glycolysis and TCA Cycle – Enzymes • Glycolysis and TCA Cycle – Equations • Glycolysis and TCA Cycle – Compartmentation • Glycolysis and TCA Cycle – Shuttles • Glycolysis and TCA Cycle – Regulation • ATP Synthesis from Acetyl-CoA • Aerobic Oxidation of Glucose: ATP Yield • Gluconeogenesis and Glycolysis • Gluconeogenesis and Glycolysis – Regulation • Lipid Metabolism • Deamination of Amino Acids – The Urea Cycle • Purine Metabolism • Pyrimidine Metabolism • Pentose Phosphate Pathways – I • Pentose Phosphate Pathways – II & III • Photosynthesis • Photosynthesis – Dark Reactions • Folic Acid Metabolism • Reactions of Tetrahydrofolate (THF) • Isoprene Metabolism • Products of Isoprene Metabolism • Heme Metabolism – Chlorophyll and Hemoglobin • Prostaglandins, Thromboxanes and Leucotrienes • ATP and Histidine Interrelationships

Az egyedi mechanizmusábrák a glikolízis folyamatsorra és a Szent-Györgyi–Krebs ciklusra épülő, integrált biokémiai összefoglaló kiemelt vonatkozásait mutatják be, s egyben

lehetőséget teremtenek arra, hogy az utóbbiból kimaradt tényezőkre (szakaszolódás, enzimek, szabályozás) is kitérjenek. Emiatt kiváló tematikus alfejezetei s egyben kiegészítői a mintegy 550 egyedi folyamatot és az azokban részt vevő enzimeket EC sorszámuk alapján is tartalmazó, az elmúlt negyven év során 21 kiadást megért *IUBMB-Nicholson Metabolic Pathways Charts* kiadványának. Az egyes folyamatábrák a honlapról háromféle alakban, GIF, SVG és PDF file formájában is letölthetők.

METABOLIC PATHWAYS



ÁLTALÁNOS LABORTECHNIKA

SZÜRŐPAPIROK MEMBRÁNSZÜRÖK

100 FALTFILTER
MACHEREY-NAGEL
MN 615/4 18,5 cm Ø

MN 640 d
100 µm porhalmazú filterpapír 11 cm Ø

MN 640 w
100 µm porhalmazú filterpapír 11 cm Ø

AKTIVIT Kft.
MACHEREY-NAGEL

NITROGEN / PROTEIN tartalom mérése

Dumas módszer szerinti egyetemes,
automata analízátorokkal

Rapid N
Vario MAX

A Dumas módszer előnyei:

- * Igen kis helyen kis mennyiség
- * Gyors (6 perc)
- * Teljesítés égés
- * Abszolút pontosság
- * Pontos ismételtetés
- * Nagy mintabemérés: 1...5 g
- * Robosztus
- * Felügyelet mentes

AKTIVIT Kft.
H-1581-Budapest, Pf.: 104.
H-1145-Budapest, Pétervárad u. 14.
Tel: 221-7865, 221-7866

IKA CATALOG

SEIT/SINCE 1844
KERN
WAAGEN - GEWICHTE - BALANCES - WEIGHTS

Chromatography

Bioanalysis

Liquid Chromatography
Sample Preparation
TLC / HPTLC
Gas Chromatography

MACHEREY-NAGEL

AKTIVIT Kft.
H-1581-Budapest, Pf.: 104.
H-1145-Budapest, Pétervárad u. 14.
Tel: 221-7865, 221-7866 Fax: 252-9940

KVALITATIV TESZTPAPIROK PH - PAPIROK Kvantitatív Tesztpapírok

MACHEREY-NAGEL · DÜREN

fast

- 24 hours delivery service
- order today, on its way tomorrow
- Sales & service hotline from 8 a.m. - 6 p.m.

competent

- DKG accreditation for balances and weights
- Accredited to ISO 9001:2000

reliable

- 3 years guarantee for balances over 4.500g
- Precision in weighing technology for almost 100 years

AKTIVIT Kft.

☒ H - 1581 - Budapest, Pf.: 104.
H - 1145 - Budapest, Pétervárad u. 14.
☎ (36-1) 221-7865, 221-7866. Fax: 252-9940

PROFESSZIONÁLIS MÉRÉSTECHNIKA ELÉRHETŐ ÁRON

Nuclear Instruments for Radiation Protection and Monitoring

VÍZANALITIKA WTW

* mobil,
* laboratóriumi és
* on-line
kivitelben

PARAMÉTEREK:
pH
*redox potenciál / oxidatív / redukatív mV
*oldott oxigén
*vezetőképesség
*hőmérséklet
*zavarosság
DO
*NO₂, NO₃, NO₃, PO₄
*TOC, SAC...
*automata vízmintavétel

WTW

MEGBÍZHATÓ EREDMÉNYEK A TEREPEN CSÚCSMINŐSÉGŰ ESZKÖZKEL

High Temperature TOC and TN_x Magas hőmérsékletű TOC és TN_x highTOC II - all in one -

nagytisztaságú vizek,
szennyvizek,
iszapok és szilárd minták
vizsgálatához egyaránt

automeas

PRODUCT INFORMATION

Sampler stationary • portable

automata vízmintavetők

AKTIVIT Kft.

H-1581-Budapest, Pf.: 104.
H-1145-Budapest, Pétervárad u. 14.
Tel: 221-7865, 221-7866 Fax: 252-9940

behr

Labor-Technik
Düsseldorf

CI 10

AOX, EOX,
POX és AOS
coulometriás
meghatározása
automatikusan

Desztilláció, extrakció, termoreakció behrotes® univerzális analitikai rendszer "NEHÉZ" MÉRÉSEK KÖNNYEDÉN

AKTIVIT KFT. Budapest
Tel: 221-7866, 470-0125. Fax: 252-9940.

behr

Labor-Technik
Düsseldorf

KOI

szabvány szerinti Kjeldahl-fenolok
össz-N

AOX AOS

automata gázelvezető és gázművelet
pl. Kjeldahl-N v. ammónia méréshez

automata vizsgálóeszközök pl. Kjeldahl-N v. ammónia méréshez

KOI, össz-N, AOS Soxhlet, ammónia AOX, EOX, POX fenol, nehézfém, cianid, szulfid, arzen, OH-szám, össz-foszfát, stb.

GYORSTESZTEK Universal

Indikator és Tesztpapírok Vizuális Tesztkészletek
1 - 1000 mg/l 0,01 - 100 mg/l

INDIKÁTOR-ÉS TESZTPAPIROK VIZUÁLIS TESZTKÉSZLETEK
1 - 1000 mg/l 0,01 - 100 mg/l

Nanocolor

AKTIVIT Kft.
H-1581-Budapest, Pf.: 104.
H-1145-Budapest, Pétervárad u. 14.
Tel: 221-7865, 221-7866 Fax: 252-9940

PROFESSZIONÁLIS MÉRÉSTECHNIKA

FOTOMETRIÁS REAGENSZETEK: 0,001 - 1000 mg/l

KÖRNYEZETVÉDELEM - VÍZANALITIKA

A Down Alapítvány rövid ismertetése

A Down Alapítvány közepesen súlyos értelmi fogyatékos és halmozottan sérült gyermekek, fiatalok és felnőttek fejlesztését, önálló életvitelének segítségét, valamint családjaik támogatását tűzte ki céljává annak érdekében, hogy lehetőleg minden értelmi fogyatékos gyermek családban nőhessen fel, és mind ő maga, mind pedig családja elfogadható emberi életet élhessen. A szülők segítségét már közvetlenül a gyermek megszületése után igyekszünk megkezdeni, információkkal, címlistákkal, ismeretterjesztő kiadványokkal. A családok **korai habilitációjához** kapcsolódnak a kisgyermekes családok számára nyaralás formájában szervezett kríziskezelő és problémafeldolgozó tréningek. Alapítványunk egy sor **kiadvánnyal, szórólappal, információs füzet**tel segíti a szülőket és a szakembereket. Évente 200–300 szülőnek, családnak, védőnőnek küldünk információt, adunk tanácsot és segítünk ügyes-bajos dolgaik intézésében. A családok korai elérésére és a segítő melléállásra a **Down Dada**, szülőkből álló országos szolgálat szakosodott.

A **Down Ambulancia** is a szülők gondjait igyekszik enyhíteni az általában több egészségi problémával járó Down-szindróma specifikus orvosi ellátását biztosítva. A preventív és kuratív céllal működő ambulanciát a Down Alapítvánnyal közösen a Bethesda Gyermekkórház működteti 16 szakrendeléssel, a Rókus Kórház, a Tűzoltó utcai Gyermekklinika és a XIV. kerületi Ida utcai Gyermekorvosi Rendelő bevonásával. **Korai fejlesztő- és tanácsadó központunk** a kisgyermek neurohabilitációján és korai gyógypedagógiai és pszichológiai fejlesztésén kívül gyógypedagógiai tanácsadással, szülőklub, szülőcsoportok működtetésével és a gyermekek óvodai integrációjával is foglalkozik. A közepesen súlyos és súlyos értelmi fogyatékosok ingyenes **fogorvosi kezelését** a Haynal Imre Egészségtudományi Egyetemen működő fogászati rendelőben biztosítjuk, szükség esetén altatással is.

A Down Alapítvány 30 fős **Átmeneti Otthona** 7 éve nonstop működő vendégház, ahova a szülők bármikor hozhat-

ják értelmi fogyatékos gyermeküket, néhány napra vagy hétre. A Down Alapítvány 30 fős **Napközotthona** a napközbeni foglalkoztatások, szinten tartó oktatás és önállóságra felkészítés színtere. Nyáron bejáró táboroként is üzemel.

Komplex, önálló életre felkészítő programunkkal maximális önállósághoz segítjük a családban nevelkedett értelmi fogyatékos fiatal felnőtteket. Már az iskolai oktatás során elkezdjük az önálló életre felkészítést és a pályaeorientációt. A szakképzéssel párhuzamosan indul a munkahely és az önálló élet színterének, a lakóotthonnak a megteremtése. Kísérleti csoportunk 10 osztályos általános iskola után négyéves szakképzésben vesz részt integrált osztályként, épek szakiskolájában. A kiscsoportos lakóotthonba költözésre való felkészítést **Napközi Otthonunkban** és hétvégi tanfolyamokon végezzük. Öt **kiscsoportos típusú lakóotthon** létrehozását terveztük el ezelőtt hat évvel. Közülük négy már megvalósult: lakóotthonainkat olyan modellnek szánjuk, mely szülőcsoportok számára mutat utat. Az ötödik otthontípus egy **Öregék Otthona**, amely a súlyosan fogyatékos, beteg vagy öreg fogyatékos személyek ellátására szakosodik. Ennek az otthonnak a megteremtése még előttünk áll. Jelenleg 65 lakó él önálló életet alapítványunk lakásaiban, illetve otthonaiban, szakembereink segítségével.

Az alapítvány működtet egy **védett munkahelyet**, ahol 30 fő számára biztosít munkát és kereseti lehetőséget. Lakóink integrált munkahelyeken történő elhelyezését is támogatjuk. Egy **munkaközvetítő iroda és munkahely-te-**

Cím: 1145 Budapest, Amerikai út 14.

Tel.: (1) 363-6353 Fax: (1) 273-1090

E-mail: gruiz@elender.hu

<http://www.tar.hu/downalapitvany>

Adószám: 18005282-1-42

Bankadatok: HVB Bank

Bank címe: Lágymányosi út 1–3.

Számlatulajdonos neve:

Down Alapítvány

Számlaszám:

10918001-00000013- 38730007



remtési alap létrehozásával igyekszünk minél több sérült embertársunkat munkához juttatni. Az Alapítvány intézményeiben az önálló életre történő felkészítésen kívül egy sor egyéb tanfolyam, terápiás és kreatív foglalkozás zajlik, gyógytorna, terápiás lovaglás, vízi terápia, sportok oktatása, zeneoktatás, kreatív stúdió, kézműves szakmák oktatása, zenekar, táncsoport stb. Nyaranként kb. 400 fő nyaraltatását oldjuk meg Balatonon, vidéki házunkban és bejárótáborainkban.

Tapasztalva, hogy az igény a létrehozott intézmények és szolgáltatások iránt sokkal nagyobb, mint amit egy viszonylag kis civil szervezet magára vállalhat, új stratégiát dolgoztunk ki. A Down Alapítvány kuratóriuma úgy döntött, hogy intézményrendszerét csak mintául szolgáló, újszerű megoldásokkal bővíti. A már kialakított új típusú intézmények elterjesztéséhez és számuk növeléséhez a szülők aktiválását, a fogyatékos gyermeket nevelő szülőkből felhalmozódott energia felszabadítását és kiaknázását szeretnénk megfelelő módszerekkel segíteni, pl. életstratégia és kríziskezelő tréningek szervezésével, tanácsadással, a szülők lelki megerősítésével, hogy képesek legyenek saját kezükbe venni sorukat, gyermekük és maguk életminőségének javítására kihasználni az egyre bővülő lehetőségeket.

A Down Alapítványt 11 tagú, szakemberekből és szülőkből álló kuratórium vezeti, az egyes projekteket és intézményeket projektvezetők irányítják. Az alapítvány az intézményeken kívül orvosi ellátást, tanácsadó és segítő szolgáltatásokat tart fenn, könyveket, tananyagokat ad ki. 40 állandó alkalmazottal és közel 100 állandó önkéntessel dolgozik. Évi költségvetése 120 millió forint.

Grúz Katalin

Újabb eredmények a szintetikus biokatalízis terén: a fenil-alanin ammónia-liáz reakció vizsgálata és alkalmazása

Recent results in synthetic biocatalysis: study and application of the phenylalanine ammonia-lyase reaction

Poppe László^{1*}, Rétey János²

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia Tanszék és MTA Alkaloidkémiai Kutatócsoport, 1111 Budapest, Szt. Gellért tér 4.
E-mail: poppe@mail.bme.hu

² Department of Biochemistry, Institute for Organic Chemistry, University of Karlsruhe, Richard-Wilstätter-Allee, D-76128 Karlsruhe, Germany

Összefoglalás

Enzimkatalizált folyamatok széles körben alkalmazhatók szintetikus célokra, többek között enantiomertiszta vegyületek szintézisére. Ilyen folyamatok megvalósítására használható fel a fenil-alanin ammónia-liáz enzim, amely magas ammónia-koncentráció esetén az ammónia fahéjsav analógokra történő addíciójának katalízisére képes. Újabb vizsgálatok kimutatták, hogy a fenil-alanin ammónia-liáz és a hisztidin ammónia-liáz reakcióiban az erősen elektrofil jellegű 3,5-dihidro-5-metilidén-4*H*-imidazol-4-on (MIO) prosztetikus csoport kulcsszerepet játszik. Az újabb mechanizmuselképzések szerint e két enzim reakcióiban lényeges lépés a MIO exociklusos metilidén-csoportjának Friedel-Crafts típusú addíciója az aminosavak aromás gyűrűjére.

A szintetikus biokatalízis jelentősége

A biokatalízis, biotranszformáció felhasználása hosszú múltra tekint vissza [1]. Ilyen, biológiai rendszerek felhasználásán alapuló módszereket az emberiség a történelmi idők kezdete óta alkalmaz különböző célokra.

A jelenleg (iparilag is) felhasznált biokatalizátorok köre az élő egészségjes rendszerektől kezdve külön-

Poppe, L.^{1*}, Rétey, J.²

¹ Budapest University of Technology and Economics, Institute for Organic Chemistry and Research Group of Alkaloid Chemistry, 1111 Budapest, Szt. Gellért tér 4.
E-mail: poppe@mail.bme.hu

² Department of Biochemistry, Institute for Organic Chemistry, University of Karlsruhe, Richard-Wilstätter-Allee, D-76128 Karlsruhe, Germany

Summary

Enzyme-catalyzed processes have been widely utilized for synthetic purposes, e.g. for synthesis of enantiomerically pure compounds. The phenylalanine ammonia-lyase enzyme – which can catalyze the addition of ammonia to cinnamate analogues at high ammonia concentration – has also been employed for such processes. Recent investigations revealed that in the reactions of phenylalanine ammonia-lyase and histidine ammonia-lyase the highly electrophilic 3,5-dihydro-5-methylidene-4*H*-imidazol-4-one (MIO) prosthetic group plays a key role. According to the recent mechanistic hypothesis, the Friedel-Crafts like addition of the exocyclic methylidene moiety of MIO to the aromatic rings of the amino acids is a principal step in the reactions of these two enzymes.

böző feldolgozottsági, tisztasági fokokon át a tiszta homogén enzimkészítményekig terjed [1,2]. Ebből eredően nehéz éles határvonalat húzni az egészségjes rendszerekkel és az izolált enzimekkel végzett biokatalitikus folyamatok közé. Bármely rendszert tekintjük is azonban, az ipari célokra felhasznált biotranszformációk során a biokatalízist minden esetben enzimek végzik [1,2].

A hatékony, szelektív szintézismódszerek iránti megnövekedett igény és a környezetvédelmi kérdések fokozatos előtérbe kerülése könnyen érthetővé teszi a „hagyományos” kémiai módszerek mellett a biokatalitikus eljárások iránti érdeklődés robbanásszerű fejlődését mind laboratóriumi, mind ipari méretekben. A biokatalízis, biotranszformáció céljaira felhasználható rendszerek (elsősorban enzimek, mikroorganizmusok) számos előnyös sajátossággal bírnak. A biokatalizátorok előnyös vonása lehet szelektivitásuk és hatékonyságuk. Majdnem minden kémiai reakciónak megtalálható az enzimatis megfelelője, a biokatalízis felhasználási területe így kevésbé korlátozott. Az enzimek természetüknél fogva környezetbarát, királis katalizátorok, sok esetben elkerülhető velük a mérgező vagy a környezetet súlyosan terhelő melléktermékek képződése [3].

A kémiai reagensekkel vagy biokatalizátorokkal végrehajtható szelektív reakciók lefutását nagymértékben meghatározza az átalakítandó szubsztrát(ok) szerkezete. A szelektív folyamatok lejárthatnak két vagy több anyag elegyén (szubsztrátszelektivitás), vagy egyetlen szubsztráton belül található különböző csoportok, illetve oldalak átalakításával oly módon, hogy egyetlen szubsztrátból egynél többféle termék képződhet (termékszelektivitás) [4]. Míg a szelektív reakciók (kemo-, regio-, diasztereomer-, illetve diasztereotópszelektív folya-

matok) egy részét akirális reagensekkel vagy katalizátorokkal is elvégezhetjük, addig az *enantiomer-szelektivitás* (az enantiomerek keverékéből, azok eltérő sebességgel történő átalakításán alapuló elválasztása) [2], illetve az enantiotópszelektivitás (itt egyetlen, akirális molekula enantiotóp csoportjainak vagy oldalainak eltérő sebességgel történő reakciója révén új kiralitás képződik) [2] megnyilvánulásához királis reagensekre vagy katalizátorra van szükség. Mivel az enzimek fehérjék, és a természetes, egy kivétellel királis aminosavakból felépülő fehérjék természetüknél fogva királis szerkezetűek, tehát kiválóan használhatók az enantiomer- és *enantiotópszelektív* folyamatok elvégzésére is.

Fontos szempont, hogy a billiárd dollár nagyságrendű gyógyszerpiacon új terméként ma már csak tiszta enantiomer gyógyszerhatóanyag engedélyeztethető. Ennek következtében érthető, hogy a királis intermedierek és hatóanyagok több tízmilliárd dolláros piaca jelenleg évi ~10%-kal növekszik. Kisebb késéssel, de hasonló a helyzet a növényvédőszer piacán is, ahol a nem hatásos enantiomer egyre inkább „szennyező anyagnak” minősül. Érthető tehát, hogy az enantiomerek tiszta elkészítésére alkalmas módszerek fejlesztése egyre inkább központi kérdéssé kezd válni a gyógyszerek, növényvédőszer, sőt a finomkémiai, kozmetikai és háztartás-vegyipari, élelmiszer-ipari termékek kutatása, fejlesztése és gyártása terén is.



Poppe László 1983-ban végzett vegyészmérnökként a Budapesti Műszaki Egyetem (BME) Vegyészmérnöki Karán. Kandidátusi fokozatát 1987-ben, az MTA doktora címét 2001-ben nyerte el. MTA-TMB ösztöndíjasként (BME Szerves Kémia Tanszék, 1983–1986) Novák Lajos mellett végzett munkáját követően az MTA Központi Kémiai Kutatóintézet tudományos főmunkatársa volt (1986–2000). Ezután (2000–2002) a BME Szerves Kémia Tanszékén tudományos főmunkatárs, majd 2003 óta a tanszéki MTA Kutatócsoportban tudományos tanácsadó. Kutatási területe biokatalízis alkalmazása sztereoselektív szintézisekben és enzimmechanizmus-vizsgálatok. Humboldt-ösztöndíjjal (Universität Karlsruhe, Németország, 1991–1992, 1994, 1995, 1997, 1998) Rétey János munkatársaként dolgozott.

Rétey János a zürichi Eidgenössische Technische Hochschule (ETH) hallgatójaként tanult kémiát, és itt végezte PhD-munkáját V. Prelog irányításával (1963). A müncheni Max-Planck Intézetben F. Lynen csoportjában posztdoktori ösztöndíjasként eltöltött időszakot (1963–1965) követően az ETH-ra visszatérve D. Arigoni professzorral végzett kutatásokat. 1968-tól az ETH docenseként szerves kémiát oktatott biológusoknak. 1971-ben elnyerte a Svájci Kémiai Társaság Alfred Werner-díját. 1972 és 2003 között a Karlsruhei Egyetem Biokémia Tanszékének tanszékvezető professzora volt, jelenleg a Karlsruhei Egyetem Kémia Intézetének emeritus professzora. Kutatási területe az enzimreakciók sztereospecifitásának és működési mechanizmusának tanulmányozása. 1989-ban a Technion (Israel Institute of Technology, Haifa, Izrael) vendégprofesszora volt.



Az *L*-fenil-alanin ammónia-liáz (EC 4.3.1.5; PAL) és *L*-hisztidin ammónia-liáz (EC 4.3.1.4; HAL) enzimek

A PAL szerepe a növények metabolizmusában

Az *L*-fenil-alanin növényvilágban és gombákban lejátszódó metabolizmusának kezdeti lépése során a fenil-alanin ammónia-liáz (EC 4.3.1.5; PAL) enzim katalizálja az ammónia nem oxidatív eliminációját. Néhány PAL enzim képes ammóniaeliminációra *L*-tirozinból is [5,6]. A PAL reakció termékeként képződő (*E*)-fahéjsav a fenil-propanoidok – mint például a lignin [7], a flavonoidok [8], illetve a kumarinok [9] – kulcsprekurzora. Az (*E*)-fahéjsav *orto*-, illetve *para*-helyzetben hidroxileződhet. Az *orto*-hidroxileződés a kumarinokhoz vezet, míg a *para*-hidroxileződés (*E*)-4-hidroxi-fahéjsavat eredményez, amely CoA-észterén át a lignin kiindulási anyaga. Mivel a fenil-alanin ammónia-liáz fontos szerepet játszik a növények metabolizmusában, érthető, hogy a PAL enzim a herbicidek egyik gyakori célpontja.

A HAL szerepe az L-hisztidin lebontásában

A hisztidin ammónia-liáz (EC 4.3.1.3; HAL) – amely az *L*-hisztidin lebontási folyamatának első enzime – szubsztrátjának nem oxidatív dezaminálását katalizálja (*E*)-húgysavvá [10,11]. A HAL megtalálható baktériumokban, állatokban és az emberben, de nincsenek ismereteink arról, hogy növényekben is előfordulna. Emberben a HAL hiánya okozza a hisztidinémia hiánybetegséget.

Enantiomertiszta *L*-aril-alaninok előállítása aril-akrilátokból fenil-alanin ammónia-liáz enzimmel

A természetes aminosavak és nem természetes analógjaik enantiomertiszta formában történő előállítása a szintetikus kémiával szemben álló egyik fontos kihívás. Mivel az ammónia-liáz reakciók természetes irányukban sztereodestruktív természetűek, úgy gondolhatnánk hogy ezeket az enzimeket csak a *D*-enantiomerek előállítására használhatjuk fel, a racém elegyből az *L*-antipód szelektív lebontásával zajló folyamatban. A természetessel ellentétes reakcióirány (ammónia addíciója aril-akrilátokra) azonban sztereokonstruktív természetű, így tehát igen jól felhasználható a természetessel egyező, *L*-konfigurációjú aminosavszármazékok biotranszformációval történő előállítására.

Az *L*-fenil-alanin ammónia-liáz (EC 4.3.1.5; PAL) és *L*-hisztidin ammónia-liáz (EC 4.3.1.4; HAL) enzimek katalizálják az ammónia nem oxidatív eliminációját. Néhány PAL enzim képes ammóniaeliminációra *L*-tirozinból is [5,6]. A PAL reakció termékeként képződő (*E*)-fahéjsav a fenil-propanoidok – mint például a lignin [7], a flavonoidok [8], illetve a kumarinok [9] – kulcsprekurzora. Az (*E*)-fahéjsav *orto*-, illetve *para*-helyzetben hidroxileződhet. Az *orto*-hidroxileződés a kumarinokhoz vezet, míg a *para*-hidroxileződés (*E*)-4-hidroxi-fahéjsavat eredményez, amely CoA-észterén át a lignin kiindulási anyaga. Mivel a fenil-alanin ammónia-liáz fontos szerepet játszik a növények metabolizmusában, érthető, hogy a PAL enzim a herbicidek egyik gyakori célpontja.

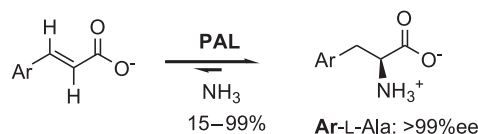
Az *L*-fenil-alanin ammónia-liáz (EC 4.3.1.5; PAL) és *L*-hisztidin ammónia-liáz (EC 4.3.1.4; HAL) enzimek katalizálják az ammónia nem oxidatív eliminációját. Néhány PAL enzim képes ammóniaeliminációra *L*-tirozinból is [5,6]. A PAL reakció termékeként képződő (*E*)-fahéjsav a fenil-propanoidok – mint például a lignin [7], a flavonoidok [8], illetve a kumarinok [9] – kulcsprekurzora. Az (*E*)-fahéjsav *orto*-, illetve *para*-helyzetben hidroxileződhet. Az *orto*-hidroxileződés a kumarinokhoz vezet, míg a *para*-hidroxileződés (*E*)-4-hidroxi-fahéjsavat eredményez, amely CoA-észterén át a lignin kiindulási anyaga. Mivel a fenil-alanin ammónia-liáz fontos szerepet játszik a növények metabolizmusában, érthető, hogy a PAL enzim a herbicidek egyik gyakori célpontja.


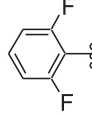


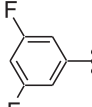


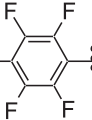











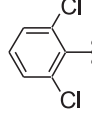
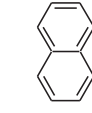



A PAL és HAL működése és szerkezete

A PAL- és HAL-reakciók mechanizmusa

Mivel a PAL és a vele rokon HAL igen hasonló reakciót (α,β -telítetlen savat eredményező ammóniaelimináció aromás aminosavból) katalizálnak, azt feltételezték, hogy e két enzim nemcsak reakcióikban, hanem szerkezetükben is hasonló. A különböző szervezetekből származó hisztidin és fenil-alanin ammónia-liázok több homológ régiót kimutató szekvencia-összevetése is valószínűsítette, hogy ezen enzimek aktív centrumai hasonlóak lehetnek [23]. Az első, 1969-ben közzétett, enzimmechanizmus-elképzelések szempontjából jelentős tanulmány [10] – amely azt feltételezte, hogy a HAL enzim a katalízishez szükséges elektrofil csoportként dehidroalanint tartalmaz – megjelenése és az elektrofil prosztetikus csoport 3,5-dihidro-5-

I. táblázat Enantiomertiszta L-fenil-alanin analógok előállítása PAL-katalízissel [12–14].



Példa	Ar	Ref.	Példa	Ar	Ref.	Példa	Ar	Ref.
1		[15]	9		[13]	17		[14]
2		[12]	10		[13]	18		[14]
3		[12,14]	11		[13,14]	19		[14]
4		[12]	12		[13,14]	20		[14]
5		[12]	13		[13,14]	21		[14]
6		[13]	14		[13]	22		[14]
7		[13,14]	15		[14]	23		[14]
8		[13,14]	16		[14]	24		[14]

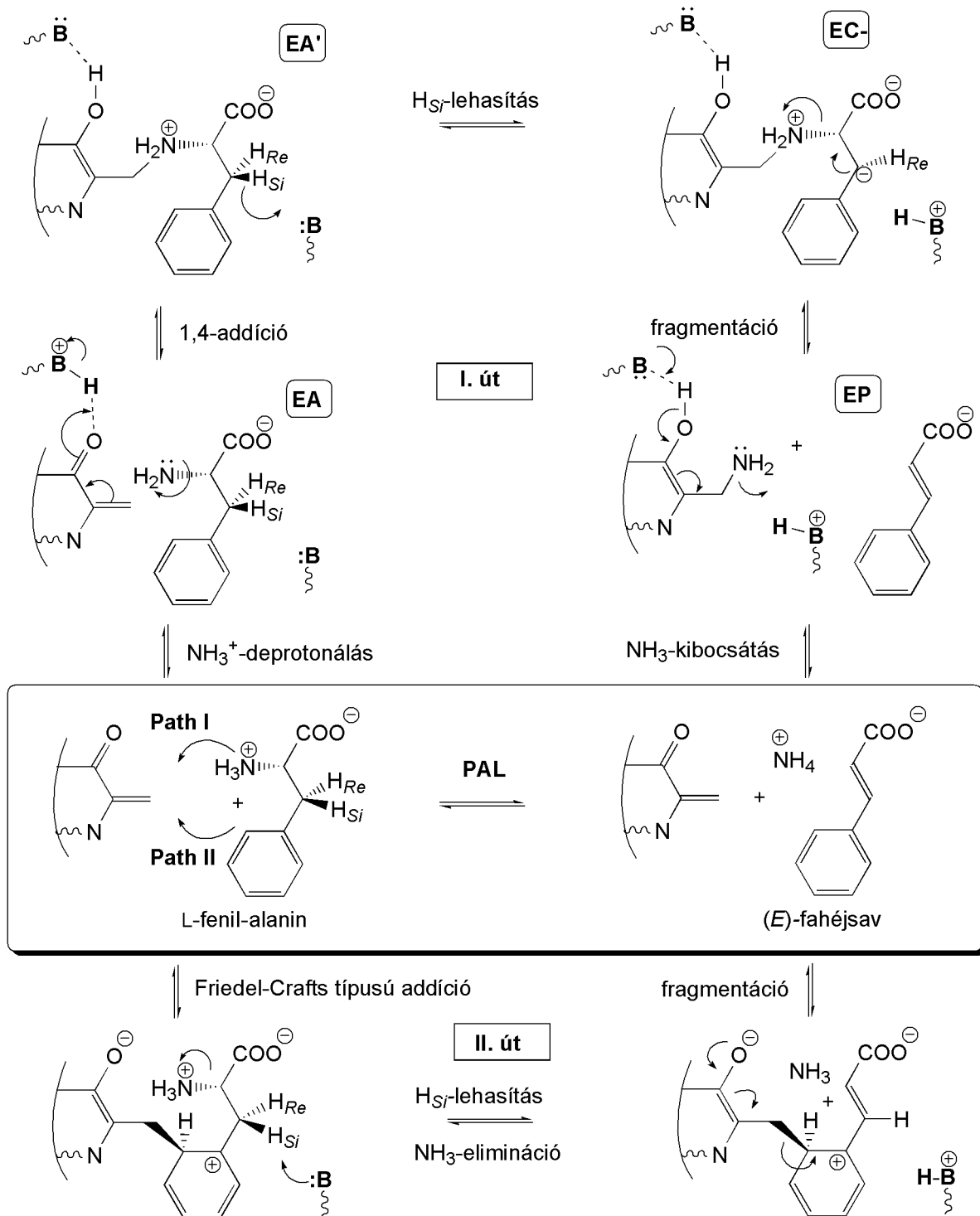
metilidén-4*H*-imidazol-4-on (MIO) szerkezetének meghatározása [24] között eltelt három évtizedben a HAL és PAL működésével kapcsolatban nagyszámú mechanizmusvizsgálati eredmény született (ezek összefoglalását több átfogó közlemény részletezi [25–27]). Az eredményeket korábban legtöbbször a *Hanson* és *Havir* által a PAL enzimre [28] (1. ábra, I. út), majd újabban a Rétey és munkatársai által a HAL [29] és PAL [30] (1. ábra, II. út) enzimekre kidolgozott mechanizmusok szerint értelmezték.

A HAL [10] és PAL [28,30] enzimekben az elektrofil proszterikus csoport szerepéről született első javaslat szerint a szubsztrát α -aminocsoportjának Michael-addíciója után a β -proton lehasítása, majd elimináció következik be. A képződő amino-enzim intermedierben ennek megfelelően az elektrofil proszterikus csoport és az ammónia között kovalens kötést feltételeztek. Ezt a feltételezést alátámasztották Peterkofsky kísérletei, melyekből kiderült, hogy az amino-HAL intermedier meglehetősen stabil [31]. Később, az [^{15}N]-fenil-alaninnal

mért kinetikus izotópeffektust (~1%) szintén a Hanson-mechanizmus szerint értelmezték [33]. Ebben a közleményben is megfogalmazták azonban a Hanson-mechanizmus fő problémáját: „Mind ez idáig az enzimen belüli karbanionképzés módja

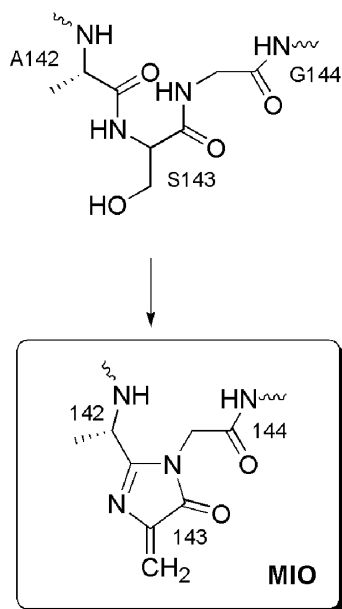
kihívó kérdés maradt.” [33]. A kérdés tehát, hogy az enzim mi módon aktiválja a β -hidrogén protonként történő lehasítását, nyitott maradt.

E kérdésre a választ a Rétey és munkatársai által a HAL [24] és PAL [30] (1. ábra, II. út) enzimekre



1. ábra A PAL reakció mechanizmusa Hanson és Havir [28] (I. út), illetve Schuster és Rétey [30] (II. út) szerint.

kidolgozott, az elektrofil prosztetikus csoportnak az aminosavak aromás gyűrűjére történő Friedel-Crafts típusú addícióját feltételező mechanizmus adta meg. Eszerint az addíciót követően képződő σ -komplex-szerű intermedierben a pozitív töltésűvé váló gyűrű elektronszívó hatása jelentősen aktiválja a β -proton lehasítását. A Friedel-Crafts típusú addíciót feltételező mechanizmus mellett szóló legfőbb érv azonban az volt, hogy a prosztetikus elektrofil prekursoraként azonosított S203 mutációjával nyert – az elektrofil prosztetikus csoportot tehát nem tartalmazó – S203A-PAL kis-mértékben ugyan, de még képes volt a reakció katalízisére (az *L*-fenil-alaninnal mért V_{\max} értéke kb. tízezred része volt natív PAL enzimmal mérhetőnek) [30]. Ezzel szemben a S203A-PAL mutáns viszonylag gyorsan, a natív PAL enzimmal gyakorlatilag megegyező sebességgel reagált 4-nitro-*L*-fenil-alaninnal [30], amelyben a nitrocsoporthatása ugyancsak képes a β -proton lehasítását elősegíteni.



2. ábra A MIO prosztetikus csoport szerkezete és prekursora a HAL enzimben.

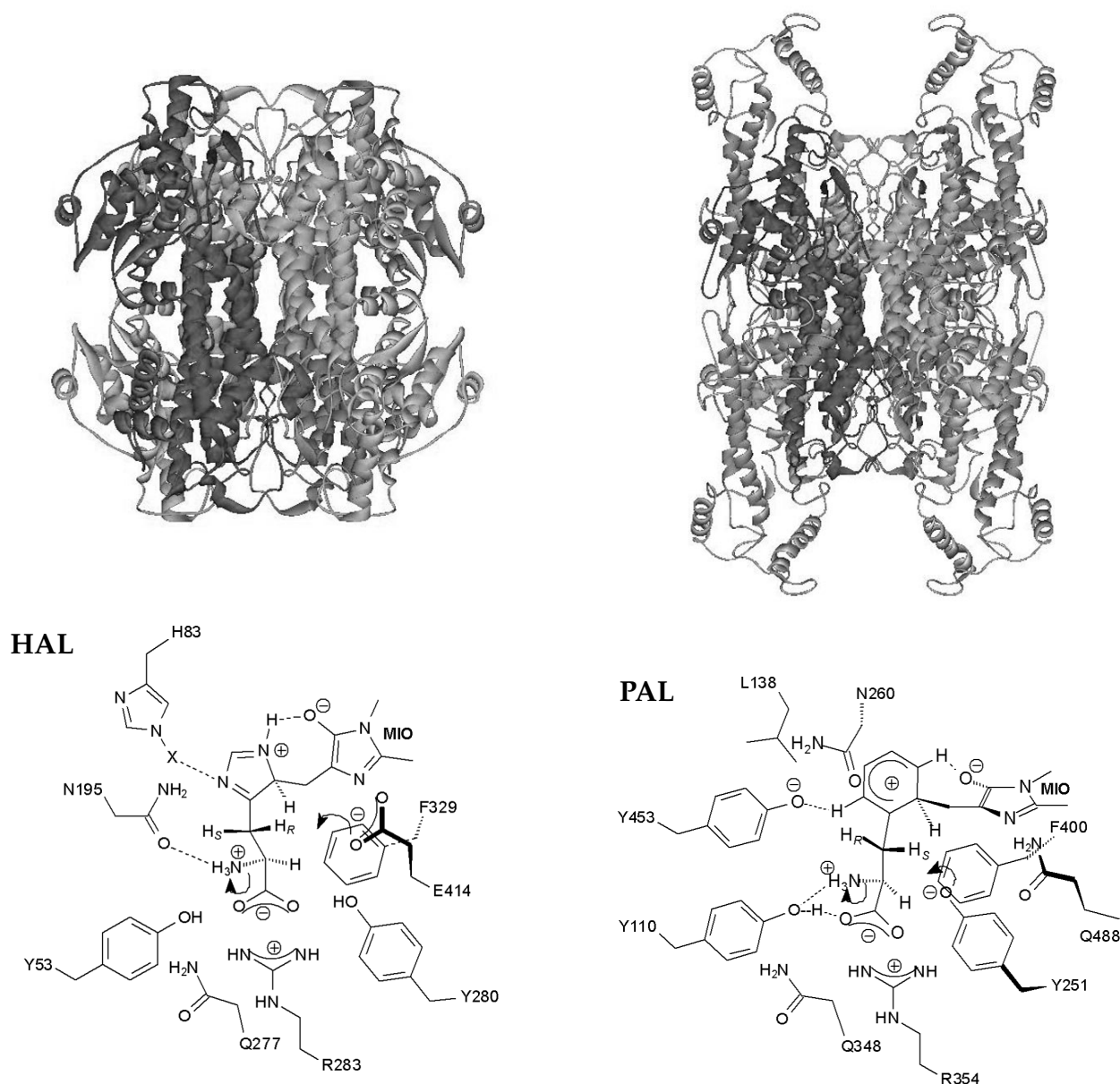
A PAL és HAL enzimek szerkezete

Az újabb eredmények szerint a HAL-katalízisben főszerepet játszó elektrofil prosztetikus csoport nem dihidroalanin, hanem az autokatalitikus úton képződő 3,5-dihidro-5-metilidén-4*H*-imidazol-4-on

(MIO, 2. ábra), amint azt a HAL nemrég meghatározott kristályszerkezete (3. ábra, bal felső panel) [24] kimutatta. A MIO-csoport jelenlétét valamivel később UV spektroszkópia segítségével a PAL enzimben is igazolták [34]. A MIO erősebben elektrofil karakterű, mint a dehidroalanin, tehát alkalmas a szubsztrátok aromás gyűrűjére történő addícióra [25–27]. A MIO-csoport N-3 atom sp^3 geometriája jelzi, hogy az N-3 magános elektronpárjának az α,β -telítetlen karbonilrendszerrel történő delokalizációja gátolt, ami tovább csökkenti az elektronsűrűséget az exociklusos metilénen. A szubsztrát nukleofil támadását követően a MIO-csoport maga aromássá válhat, ami ellensúlyozza a szubsztrát aromás jellegének megszűnéséből eredő energianövekményt [25–27].

Mivel a HAL enzim kristályszerkezete (3. ábra, bal felső panel) se szubsztrátot, se szubsztrátanalógot nem tartalmazott [24], az aktív centrumban található aminosav-oldalláncoknak a szubsztrát megkötésében és a katalízisben betöltött szerepének vizsgálatához a HAL következő aminosavegyiségeit mutálták: R283, Y53, Y280, E414, Q277, F329, N195 és H83 [35]. A HAL-mutánsokkal végzett kinetikai mérések szerint a legnagyobb mértékű aktivitáscsökkenés az Y53F, E414Q, H83L és az E414A HAL-mutánsok esetében volt tapasztalható. A legnagyobb, 20900-szoros csökkenést az E414A mutáció okozta. A mutációk és a szubsztrát HAL aktív centrumába modellezése segítségével [35] az aktív hely aminosav-oldalláncainak szerepe értelmezhetővé vált (3. ábra, bal alsó panel). Ezek szerint az E414 karboxilátcsoportja játssza a katalízisben a β -protont lehasító bázis fontos szerepét. Az Ala-Ser₁₄₃-Gly triád a MIO prekursora, míg az F329 fő szerepe – analóg módon, mint azt a PAL esetében már javasolták [13] – a σ -komplex-szerű intermedierben az imidazol C5' helyzetéhez kötött H-atom védelme és stabilizálása.

Bár a PAL kísérleti szerkezete még nem ismert, funkcionális és genetikai hasonlóságukat figyelembe véve a PAL enzim szerkezeti modellje a HAL (és részben az aszpartáz) ismert szerkezete alapján homológiamodellezéssel elkészíthető volt [36] (3. ábra, jobb felső panel). A PAL modell alkalmas volt a szubsztrátkötődés modellezésére is [36] (3. ábra, jobb alsó panel). A PAL aktív centrum modell nagyfokú hasonlóságot mutatott a HAL aktív helyéhez [36] (4. ábra). A HAL enzimhez hasonlított genetikai



3. ábra A HAL kristályszerkezetének [24] és aktív centrum modelljének [35] összehasonlítása a PAL homológiamodellezéssel nyert szerkezetével és aktív centrum modelljével [36].

sorrend és a PAL modell alapján a PAL aktív helyének következő aminosavvegyéseit mutálták: S203, R354, Y110, Y351, N260, Q348, F400, Q488 és L138 [36]. A PAL mutánsokkal végzett kinetikai mérések szerint a legnagyobb mértékű aktivitáscsökkenés az N260A, Q348A és Y110F PAL mutánsokkal volt megfigyelhető, az utóbbi mutáció 75000-szeres aktivitáscsökkenést eredményezett. E kísérletek és a felépített modell lehetővé tették az aktív hely aminosav-oldalláncainak a katalízisben betöltött szerepének értelmezését [36]. Az enzimatis bázis

itt az Y251, a σ -komplex-szerű intermedierben a fenilcsoport C_{sp^3} -H védelmét az F400 végzi, míg a katalízisben legjelentősebb szerepet betöltő Y110 szerepe a szubsztrát karboxilátcsoportjának rögzítése és a kilépő aminocsoport lazítása.

4. ábra (lásd a címlapon) A hisztidin ammónia-liáz kísérleti szerkezetéből [24] nyert aktív centrum modell [35] összehasonlítása a fenil-alanin ammónia-liáz homológiamodellezéssel nyert aktív centrum modelljével [36]. (Az ábrát az Eur. J. Biochem. engedélyével a [36] cikkből vettük át.)

A nemrégiben felfedezett, MIO-csoportot tartalmazó *L*-tirozin α,β -amino-mutáz újabb taggal bővítette a MIO-tartalmú enzimek családját [37]. Ezen enzim esetében a katalízis során az ammónia nem lép ki, hanem az intermediereként képződő (*E*)-4-hidroxi-fahéjsav β -helyzetéhez kötődik vissza. A részletes vizsgálatok kimutatták, hogy kismértékben ezzel az enzimmel is képződik láztermékként a (*E*)-4-hidroxi-fahéjsav [37]. A MIO-tartalmú tirozin amino-mutáz működési mechanizmusát – hasonlóan a HAL és PAL enzimekhez – a Rétey és munkatársai által javasolt PAL mechanizmus [30] analógiájára, Friedel-Crafts típusú addíciót feltételezve értelmezték [37].

Köszönetnyilvánítás

A közlemény P.L. Bruckner-termi előadása (Budapest, 2003. április 25.) alapján készült. Az összefoglalóban bemutatott saját eredmények az Európai Unió, a Deutsche Forschungsgemeinschaft, valamint az OTKA (T-33112) támogatásával valósultak meg.

Irodalomjegyzék

- Liese, A., Seelbach, K., Wandrey, C. (2000). Industrial Biotransformations. (Wiley-VCH, Weinheim – New York).
- Poppe, L., Novák, L. (1992). Selective Biocatalysis – A Synthetic Approach. (VCH, Weinheim – New York).
- Bull, A. T., Bunch, A. W., Robinson, G. K. (1999) Biocatalysts for clean industrial products and processes. *Curr. Opin. Microbiol.*, **2**: 246–251.
- Nógrádi, M. (1986). Stereoselective Synthesis. (VCH: Weinheim – New York).
- Sawada, S., Kumagai, H., Yamada, H., Hill, R. K., Mugibayashi, Y., Ogata, K. (1973) Stereochemistry of ammonia elimination from *L*-tyrosine with *L*-phenylalanine ammonia-lyase. *Biochim. Biophys. Acta*, **315**: 204–207.
- Rosler, J., Krekel, F., Amrhein, N., Schmid, J. (1997) Maize phenylalanine ammonia-lyase has tyrosine ammonia-lyase activity. *Plant Physiol.*, **113**: 175–179.
- Chen, M., McClure, J.W. (2000) Altered lignin composition in phenylalanine ammonia-lyase-inhibited radish seedlings: implications for seed-derived sinapoyl esters as lignin precursors. *Phytochemistry*, **53**: 365–370.
- Logemann, E., Tavernaro, A., Schulz, W., Somssich, I. E., Hahlbrock, K. (2000) UV light selectively induces supply pathways from primary metabolism and flavonoid secondary product formation in parsley. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 1903–1907.
- Kitamura, Y., Ikenaga, T., Ooe, Y., Hiraoka, N., Mizukami, H. (1998) Induction of furanocoumarin biosynthesis in *Glechma littoralis* cell suspension cultures by elicitor treatment. *Phytochemistry*, **48**: 113–117.
- Givot, J. L., Smith, T. A., Abeles, R. H. (1969) Studies on the mechanism of action and the structure of the electrophilic center of histidine ammonia-lyase. *J. Biol. Chem.*, **244**: 6341–6353.
- Wickner, R. B. (1969) Dehydroalanine in histidine ammonia-lyase. *J. Biol. Chem.*, **244**: 6550–6552.
- Gloge, A., Langer, B., Poppe, L., Rétey, J. (1998) The behavior of substrate analogues and secondary deuterium isotope effects in the phenylalanine ammonia-lyase reaction. *Arch. Biochem. Biophys.*, **359**: 1–7.
- Gloge, A., Zon, J., Kóvári, A., Poppe, L., Rétey, J. (2000) Phenylalanine ammonia-lyase: the use of its broad substrate specificity for mechanistic investigations and biocatalysis – synthesis of *L*-arylalanines. *Chem. Eur. J.*, **6**: 3386–3390.
- Liu, W. (1999) Synthesis of optically active phenylalanine analogs using *Rhodotorula graminis*. *USA Szab.*, **5**: 981–239.
- Yamada, S., Nabe, K., Izuo, N., Nakamichi, K., Chibata, I. (1981) Production of *L*-phenylalanine from trans-cinnamic acid with *Rhodotorula glutinis* containing *L*-phenylalanine ammonia-lyase activity. *Appl. Environmental Microb.*, **42**: 773–778.
- Williams, V. R., Hiroms, J. M. (1967) Reversibility of the “irreversible” histidine ammonia-lyase reaction. *Biochim. Biophys. Acta*, **139**: 214–216.
- Fuchs, R. L., Kane, J. F. (1985) *In vivo* synthesis of histidine by a cloned histidine ammonia-lyase in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **162**: 98–101.
- Klee, C. B., Kirk, K. L., Cohen, L. A., McPhie, P. (1975) Histidine ammonia-lyase. The use of 4-fluorohistidine in identification of the rate-determining step. *J. Biol. Chem.*, **250**: 5033–5040.
- Klee, C. B., Kirk, K. L., Cohen, L. A. (1979) 4-Nitro-*L*-histidine as a substrate for histidine ammonia-lyase: the role of β -hydrogen acidity in the rate-limiting step. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **87**: 343–348.
- Evans, C. T., Hanna, K., Payne, C., Conrad, D., Misawa, M. (1987) Biotransformation of trans-cinnamic acid to *L*-phenylalanine: optimization of reaction conditions using whole cells. *Enzyme Microb. Technol.*, **9**: 417–421.
- Yanaka, M., Ura, D., Takahashi, A., Fukuhara, N. (1994) Manufacture of β -substituted alanines with *L*-phenylalanine ammonia-lyase. *Jap. Szab.* 06-113 870.
- Rees, D. G., Jones, D. H. (1997) Activity of *L*-phenylalanine ammonia-lyase in organic solvents. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1338**: 121–126.
- Taylor, R. G., Lambert, M. A., Sexsmith, E., Sadler, S. J., Ray, P. N., Mahuran, D. J., McInnes, R. R. (1990) Cloning and expression of rat histidase. Homology to two bacterial histidases and four phenylalanine ammonia-lyases. *J. Biol. Chem.*, **265**: 18192–18199.
- Schwede, T. F., Rétey, J., Schulz, G. E. (1999) Crystal structure of histidine ammonia-lyase revealing a novel polypeptide modification as the catalytic electrophile. *Biochemistry*, **38**: 5355–5361.
- Langer, B., Langer, M., Rétey, J. (2001). Methylidene-imidazole-one (MIO) from histidine and phenylalanine ammonia lyase. In: Advances in Protein Chemistry. Vol. 58 (Klinman, J. P., Dove, J. E., Eds.), (Academic Press, New York).
- Poppe, L. (2001) Methylidene-imidazole (MIO): a novel electrophile for substrate activation. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **5**: 512–524.
- Rétey, J. (2003) Discovery and role of methylidene imidazolone, a highly electrophilic prosthetic group. *Biochim. Biophys. Acta*, **1647**: 179–184.
- Hanson, K. R., Havir, E. A. (1970) *L*-Phenylalanine Ammonia-lyase. IV. Evidence that the prosthetic group contains a dehydroalanyl residue and mechanism of action. *Arch. Biochem. Biophys.*, **141**: 1–17.
- Langer, M., Pauling, A., Rétey, J. (1995) The role of dehydroalanine in catalysis by histidine ammonia-lyase. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **34**: 1464–1465.
- Schuster, B., Rétey, J. (1995) The mechanism of action of phenylalanine ammonia-lyase: the role of prosthetic dehydroalanine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**: 8433–8437.
- Hodgins, D. S. (1971) Yeast phenylalanine ammonia-lyase. Purification, properties, and the identification of catalytically essential dehydroalanine. *J. Biol. Chem.*, **246**: 2977–2985.
- Peterkofsky, A. (1962) Mechanism of action of histidase. Amino-enzyme formation and partial reactions. *J. Biol. Chem.*, **237**: 787–795.
- Hermes, J. D., Weiss, P. M., Cleland, W. W. (1985) Use of nitrogen-15 and deuterium isotope effects to determine the chemical mechanism of phenylalanine ammonia-lyase. *Biochemistry*, **24**: 2959–2967.
- Röther, D., Merkel, D., Rétey, J. (2000) Spectroscopic evidence for a 4-methylidene imidazol-5-one in histidine and phenylalanine ammonia-lyases. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **39**: 2462–2464.
- Röther, D., Poppe, L., Viergutz, S., Langer, B., Rétey, J. (2001) Characterisation of the active site of histidine ammonia-lyase from *Pseudomonas putida*. *Eur. J. Biochem.*, **268**: 6011–6019.
- Röther, D., Poppe, L., Morlock, G., Viergutz, S., Rétey, J. (2002) An active site homology model of phenylalanine ammonia-lyase from *Petroselinum crispum*. *Eur. J. Biochem.*, **269**: 3065–3075.
- Christensen, S. D., Lin, W., Toney, M. D., Shen, B. (2003) A Novel 4-Methylideneimidazole-5-one-Containing Tyrosine Aminomutase in Eneidyne Antitumor Antibiotic C-1027 Biosynthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**: 6062–6063.



Galambos József, *Napfivér, Holdnővér* (2000), akril, vászon

Képei döntően akriltechnikával vászonra készített festmények. Leegyszerűsített rajzolatú, geometrikus körvonalú figurái részint prehisztórikus utalások, részint az absztrakt korai, a kubizmus utáni tradicionális – de nem expresszionista – iskoláihoz csatlakoznak (a stílári ábrázolás kapcsán Deim Pálhoz, de akár Bálint Endre korai munkáihoz is), ugyanakkor egyes szentendrei hagyományokat is követnek, elsősorban a Vajda Lajos Stúdió egyik vonalába (Vahorn András) illeszkednek. Optikai teret nem érzékeltet, nem „csap be” a perspektívával, a képek kétdimenziósak maradnak – ez is a modern archaizmus sajátja. Egyik méltatója szerint „*figuráinak képi megfogalmazása dinamiz-*



Galambos József, *Álomhatár* (1999), akril, vászon

Galambos József 1967-ben született Hódmezővásárhelyen. Pedagógus, rajztanár, gyermek- és kamaszkora óta fest, amire nyári alkotótáborok (Mártély) inspirálták, s közép- és főiskolás tanulmányai alatt további motivációkat kapott. Jelenleg Szentendrén él, ahol a Barcsay Jenő Általános Iskolában tanít, a gyermeki szellem naivitása, szín- és érzelemvilága sok új ötlettel látja el. Emellett a város hangulata, művészete, motívumkincse szintén hatással van munkáira. Kiállításai elsősorban a szentendrei művészeti élethez kapcsolódnak (Vajda Lajos Stúdió, Művészteleni Galéria, Művészetmalom), képeit emellett más hazai és külföldi (Írország) tárlatain ismerhette meg a közönség. 2000 óta a Magyar Alkotóművészek Országos Egyesületének (MAOE) tagja.



Galambos József, *A vágta* (1998), akril, vászon

must sugároz, a festmények anyagi világába szinte észrevétlenül szűrődik be a transzcendencia. Ez a fajta absztrakció a szentendrei művészet egyik tradicionális vonala.” Színkezelése az ábrázolás dinamikájához illeszkedően sokféle: gyakorta mély tónusú, mely lehet nyomasztó hatású vagy *grisaille* technikába hajlóan monokromatikus, másutt az élénk, harsány, egymástól elütő színek kontrasztját alkalmazza. A képi feszültséget az alakok és a háttérszínek közötti ellentmondás is erősíti: a nyugodt színkezelésű, gyakran meleg, mély vörösesbarna vagy sötét síkon belül jelenik meg egy erősen irányuló, „szúrósan” agresszív elem. Témaválasztása változatos, egyes képeinek alapmotívuma filozofikus-allegorikus, esetenként metafizikus, másutt a szentendrei városkörnyezet elemeit építi be munkáiba a jelzés, a jelkép szintjén, megint más képeinek hangvétele politikára vagy az életformára utaló ironia.



sartorius



Protein isolation,
concentration and
purification

Monoclonal antibody
purification from
tissue culture supernatant

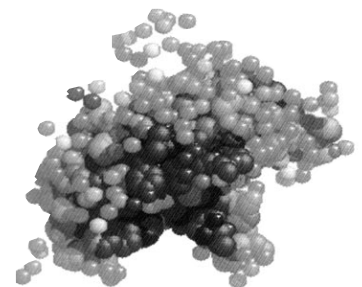
Endotoxin Removal

Charged carbohydrate
purification

Clinical diagnosis,
analyses

membran

Sartorius-Membrán Kft.
2092 Budakeszi, Kagyló utca 5.
Tel.: 06-23-457-148, 06-23-457-227, 06-23-457-228
Fax: 06-23-457-147
E-mail: s-membran@s-membran.hu
web: www.s-membran.hu



Fiatal Biotechnológusok Nívódíja

Tájékoztató a Magyar Biokémiai Egyesület és az MTA Biomérnöki Munkabizottság által alapított szakmai kitüntetéséről.

A 8. Európai Biotechnológiai Kongresszus anyagi sikere lehetővé tette, hogy egy jelentős összeget alapítványi célra különítsünk el, amelyből évente hét egyetemen készült, egy-egy biotechnológiai tárgyú diplomamunkát lehet jutalmazni. A részben erre a feladatra létrehozott Operatív Bizottság gondoskodik a diplomamunkák kiválasztásáról, a legjobb diplomamunkák készítőinek a *Fiatal Biotechnológusok Nívódíjának* odaítéléséről és 30–30 ezer forintos jutalmazásáról. A díj értékállóságának megtartására az alapösszeg kamatát használjuk fel. Az elkülönített keret kb. 10 éven keresztül teszi lehetővé a díj kiosztását.

Az Operatív Bizottság (melynek tagjai: Dr. Nyeste László az MTA Biomérnöki Munkabizottságának elnöke, Dr. Szajáni Béla a MBKE főtítkárhelyettese, Dr. Szentirmai Attila a MBKE Biotechnológiai Szakosztályának volt elnöke) ez évben hat egyetemen adott ki Nívódíjat.

Fiatal Biotechnológusok Nívódíja kitüntetésben részesültek az alábbi hallgatók a következő című diplomamunkájukkal (zárójelben a témavezetőjük nevét is megadtuk):

Kaskötő Zoltán (Debreceni Egyetem, Természet-tudományi Kar, Mikrobiológia és Biotechnológia Tanszék, témavezető: Prof. Szentirmai Attila)

„Az Erwinia amylovora ellen hatásos anyagot termelő baktériumtörzs vizsgálata”

Lefler Dóra Dominika (Szt. István Egyetem, Élelmiszer-tudományi Kar, Sör- és Szeszipari Tanszék, témavezető: Nguyen Duc Quang, Rezessyné dr. Szabó Judit) *„A tápközeg-összetétel és az alfa-galaktózidáz enzim formák közötti összefüggés a Thermomyces lanuginosus termofil gombánál”*

Stágel Anikó (ELTE, TTK, Genetika Tanszék, témavezető: Dr. Nagy István) *„Mikroszatellit-polimorizmus vizsgálata paprikánál”*

Bálint Balázs (Szegedi Tudományegyetem, TTK, Biotechnológia Tanszék, témavezető: Prof. Kovács Kornél, Dr. Rákhely Gábor) *„Kreatintartalmú szerves hulladék mint megújuló energiaforrás”*

Stéger Viktor (Szt. István Egyetem, Mezőgazdasági és Környezettudományi Kar, Biotechnológia és Növénynevelés Szakirány, Gödöllő, Témavezető: Dr. Papp Péter, Molnár Andrea) *„A gímsszarvas agancsfejlődésében megnyilvánuló gének azonosítása”*

Szikszai Boglárka (BME, Vegyészmérnöki Kar, Mezőgazdasági Kémia Technológia Tanszék, témavezető: Prof. Sevelle Béla, Kupcsulik Bálint) *„Gloconobacter suboxydans-szal előállított dehidrogenáz enzimek vizsgálata”*

A jutalmazottaknak e helyen is gratulálunk, és valamennyiüknek sikeres tudományos életutat kívánunk. Budapest, 2003. szeptember

Nyeste László
az Operatív Bizottság elnöke

Federation of the European Biochemical Society

Dear member of a FEBS Constituent Society,

FEBS aims to keep you regularly informed about its many activities (including Fellowships, Advanced Courses and the Annual Meeting), about important events organised by Constituent Societies and about any other relevant developments (e.g. the 6th EU Framework Program). For this purpose a new bimonthly electronic FEBS Newsletter has been created.

In order to allow FEBS to send you this Newsletter, you simply have to REGISTER on the FEBS Web-site:

http://febs.unibe.ch/e-mail_registration.asp

FEBS hopes that you will welcome this regular flow of information. Please take a few minutes to register. We assure you that the mailing list will be used only to promote the activities of FEBS and will not be made available to anyone for any other purpose.

Upon registration, FEBS will also provide you with other benefits in addition to the FEBS Newsletter:

- electronic tables of contents (e-ToC) for each issue of both FEBS journals (*European Journal of Biochemistry* and *FEBS Letters*) with direct links to the new issue, as soon as it becomes electronically available.
- free access for three months to the electronic edition of *European Journal of Biochemistry*.

With kind regards,
Julio E. Celis, Secretary-General

FEBS Secretariat

Institute of Cancer Biology and Danish Centre for Human Genome Research, Danish Cancer Society,
Strandboulevarden 49, DK-2100 Copenhagen O, Denmark
Phone: +45 3525 7364, Fax: +45 3525 7376
E-mail: febs@cancer.dk



Biotechnológia és környezetvédelem

A fenti címmel a Környezetvédelmi és Vízügyi Minisztérium (KvVM) 2003. június 25-26-án másfél napos plenáris konferenciát rendezett a géntechnológiai eljárások környezet- és természetvédelmi kérdéseinek megvitatására. A nagy érdeklődéssel kísért rendezvénynek a Hotel Mercure Buda adott otthont.

Az első napon a biotechnológia jogi és hatósági kérdései és a biotechnológia környezeti konfliktusai szerepeltek a napirenden. Schmuck Erzsébet, helyettes államtitkár (KvVM) bevezetőjét követően Nagy Dénes (KvVM) tartott előadást „Géntechnológia és biodiverzitás a nemzetközi szabályozás tükrében” címmel. Az előadó időrendi sorrendben ismertette a legfontosabb nemzetközi szabályzókat, köztük a Biodiverzitás egyezményt, a Cartagena jegyzőkönyvet és az európai uniós jogszabályokat (90/219/EGK, 90/220/EGK, 2001/18/EK irányelvek). Hangsúlyozta, hogy a szabályzás legfontosabb elemei közé tartozik a folyamatok nyomon követése, az elővigyázatosság elvének alkalmazása és a kockázatbecslés pontosítása. Ezt követően a Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium képviselőjében Székely Bertalan a genetikailag módosított (GM) szervezetekre vonatkozó magyar jogi szabályozásról, a hatósági és ellenőrzési tevékenységről adott áttekintést. Hangsúlyozta az 1998. évi XXVII. törvény, a 2002. évi LXVII. törvény és a végrehajtási rendeletek jelentőségét a közép-kelet-európai térségben, és szólt a jelenleg zajló jogharmonizációs munkáról. Az elhangzottakhoz jól kapcsolódott Venetianer Pál (SZBK) előadása, aki a szakmai véleményezési feladatokat ellátó Géntechnológiai Bizottság 1999 és 2003 között végzett tevékenységéről és tapasztalatairól adott tájékoztatást. A Bizottság véleménye alapján az 1999–2001 időszakban 33 engedélyt adtak ki kibocsátásra, valamennyit kizárólag kísérleti célra, forgalomba ezek közül egyetlen GM szervezet sem került. 2002-ben 14 kérelem érkezett be, zömükben a korábbiak meghosszabbítása iránt, az idén csupán egyetlen kérelem alapján adtak ki engedélyt s egyet utasítottak el. Venetianer professzor szerint a bizottság láthatóan keveset dolgozik, amelynek elsődleges oka, hogy kevés a kérelem: a biotechnológiai cégek érezhetően kivonulnak Európából, s a kutatást is kiviszik magukkal. A bizottság

munkáját nehezítette, hogy a pályázók kezdetben, mondhatni, félvállról vették e döntéshozó testületet, s bizonyos szakmai inkompetencia is megfigyelhető időnként, legalább abban a tekintetben, hogy előfordult, hogy a multinacionális cégek hazai képviselői a pályázati anyagban külföldi pályázatok dilettáns fordítását adták le elbírálásra. Az előadó emellett hangsúlyozottan kiemelte, hogy a bizottság szakmai testület, s nem illetékes abban, hogy a piaci helyzetre vonatkozó döntést hozzon. Szintén szabályzási kérdésekkel foglalkozott Tombác Endre (ÖKO Rt.) „A GMO környezeti vizsgálat helye, szerepe az engedélyezési eljárásban” című előadásában. A vonatkozó EU-szabályzatról szólva kiemelte a környezetvizsgálat, a kockázatbecslés szükségességét, valamint a döntés-előkészítő javaslatok megalapozottságának fontosságát.

Takács-Sánta András (MTA-ELTE) a Jövő Nemzedékek Képviselője (JÖNEK) nevében röviden összefoglalta a mezőgazdasági géntechnológiával kapcsolatos nézeteiket. A JÖNEK, eddig elkészült három, éves jelentésében a genetikailag módosított szervezetekről, valamint a vonatkozó mezőgazdasági géntechnológiák kockázatairól és veszélyeiről alkotott felvetéseket és véleményeket. Móra Veronika (Ökotárs Alapítvány) előadásában a biotechnológia társadalmi fogadtatásának és megítélésnek kérdéseivel foglalkozott. Az előadó újszerű elemként emelte ki, hogy a széles társadalmi visszhang miatt a GM-technológia kialakulásával párhuzamosan rögtön megjelennek az ellenvélemények, az ellenállás, a tiltakozó mozgalmak, ami különösen Európában további, széles körű kihatásokkal jár. Az EU országokban korábban is heves viták bontakoztak ki a genetikailag módosított szervezetekről alkotott vélemények és a technológia alkalmazásával kapcsolatban, 1998 óta pedig *de facto* moratórium áll fenn. Véleménye szerint lassításra, megfontolásra, óvatosságra és elővigyázatos megközelítésre lenne szükség a mezőgazdasági géntechnológia kritikátlan támogatása és terjesztése helyett. Egyben utalt arra, hogy szemléleti vita van kibontakozóban, konkrétan a géntechnológia és általában a mezőgazdaság jövőképe kapcsán, hiszen a monokultúra, intenzív termesztést célul kitűző géntechnológia nem jelent elmozdulást a mai mezőgazdasági szemlélethez képest, ugyanakkor újabb szennyező-

forrást (genetikai szennyezés) hoz létre. Egyben kitért a GM-technológia nyomán felmerülő etikai kérdésekre is: megengedhető-e, hogy egy élőlény szabadalmazható, ipari fejlesztési termékként jelenhessen meg, vagyis az elvek szintjén hogyan tekintünk a minket körülvevő élővilágra.

Darvas Béla (MTA Növényvédelmi Kutatóintézete) előadásában az első generációs, genetikailag módosított növények ökológiai konfliktusaira hívta fel a figyelmet. A Bt-kukorica esetében rávilágított a Bt-toxint tartalmazó pollen környezeti eloszlására. Javasolta, hogy az ilyen típusú pollen védett lepkéfélékre gyakorolt hatását részletes rizikóanalízis állapítsa meg, s felvetette, mennyire indokolt a Bt-tartalmú tarlómaradványok vizsgálata. Kitért arra, hogy a *bromoxynil*, *glyphosate*, *glufosinate* hatóanyagú gyomirtó szerekkel szemben toleráns növények termesztésével összefüggésben gondot jelenthet az interspecifikus és intraspecifikus hibridképződés, a fajták avulása pedig követi a hatóanyag elavulását. Szakmailag indokoltnak tartja ezért az ökotoxikológiai, dietetikai és szermaradék-analitikai szempontok figyelembevételét.



Az előadók válaszolnak a hallgatóság kérdéseire. Az előtérben Venetianer Pál (középen) és Darvas Béla (jobbra).

A következő előadásban Kiss József (SZIE) az EU 5. KTF keretprogramon belül a Bt-növényekkel és rovargyüttesekkel kapcsolatban folyó kutatások eredményeiről és tapasztalatairól számolt be. A vizsgálatok a herbivorokra (pl. földibolhák, kabócák, levéltetvek, gyapottok bagolylepke) és azok predátoraira (pl. a levéltetvek esetében Coccinellidae) egyaránt kiterjednek. Egyedülállónak tekinthető a *Theridion impressum* pókfaj hálótartalom-vizsgálata. A szerzett tapasztalatok alapján

azt javasolják, hogy minden egyes eseményre, minden egyes toxinra, minden egyes növényre külön vizsgálatot kell végrehajtani. Bakonyi Gábor (SZIE) a Bt-toxin termelő növények és a talajállatok kapcsolatával foglalkozó előadásban rávilágított arra, hogy az agrár-ökoszisztémákban a tarlómaradványok lebontása fontos szakmai kérdés, hisz a növényi nettó produkció 40–60%-a a lebontóágazatba kerül. Izogénes kukorica termesztési talaján nem tapasztaltak különbséget a Bt- és az izogénes növények lebontásában, viszont Bt-kukorica termesztési talaján igen. A három ugróvillás fajjal végzett táplálékválasztási vizsgálatban ugyancsak észleltek eltéréseket. Egészen más oldalról közelítve a témakört Rodler Imre (OÉTI) a GM élelmiszerek élelmiszer- és táplálkozásbiztonsági kérdéseiről adott nemzetközi és hazai áttekintést. Részletesen szólt a második generációs GM növények táplálkozás-élettani előnyeiről, hangsúlyozta a GM-technológia világméretű terjedését, de egyúttal rávilágított a tisztázandó élelmiszer-biztonsági kérdésekre is.

A tanácskozás második napján a biotechnológiai kutatással és gyakorlattal kapcsolatos előadások hangzottak el. Elsőként Czepó Mihály (Barabás Zoltán Biotechnológia Egyesület) a kukoricabogár elleni környezetkímélő, biotechnológiai védekezés lehetőségeiről szólt, elsősorban USA-beli tapasztalatokra építve. Előadásában kiemelte, hogy a kártevő elleni védekezésben alternatívát jelent a biotechnológia, a Cry3B_{b1} fehérjét tartalmazó, kukoricabogár-ellenálló kukorica alkalmazása. Előnyként említette a hatékonyság növekedését, a fokozottabb biztonságot és a kedvezőbb környezeti hatásokat. Márialigeti Károly (ELTE) a „Mikrobiális biotechnológia a környezetvédelemért” című átfogó előadásban a biotechnológia által kínált számos lehetőségre világított rá. A kovamoszatokra alapozott *monitoring* vizsgálatok eredményei jól felhasználhatók a környezeti állapot elemzéséhez, a mikrobiális erőforrások megismerése és alkalmazása pedig több területen (mikrobiális *bioprospecting*, „*genome mining*”) is hozhat jelentős előrelépést. A meglévő technológiák optimalizálásában, a tisztább technológiák kidolgozásánál ugyancsak teret nyerhet a molekuláris biotechnológia (pl. biológiai védekezés cserebogár ellen, tüzelhalás ellen). A szennyezések feltárása és a kárelhárítás során hatékony bioremediációs eljárások alkalmazására van mód, a hulladékkezelés területén – pl. ipari

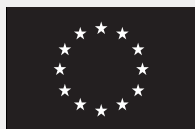
szennyvíztisztításnál – pedig mesterséges lág alkalmazásával, a talajtisztításnál a benzol lebontásának vizsgálatával adódnak újabb lehetőségek. A mikrobiális biotechnológia távlatairól szólva az előadó az üzemanyagcella használatát, valamint a mikrochipgyártás során a fotomaszkolás kiváltását hozta fel példaként.

Ezt követően Szentey László (FVM) előadásában a gyomirtószertoleráns GM növények és a gyakorlat összefüggéseit ismertette. Leszögezte, hogy Magyarországon transzgenikus növény kereskedelmi forgalomba hozatalára nincs engedély kiadva, kizárólag kísérleti célra bocsátottak ki engedélyt. A gyomirtószertoleráns transzgenikus növények az USA piacán jelentős hányadot képviselnek. Magyarországon 1996 óta folynak ilyen kísérletek glufozinát-ammónium- (*Liberty*), illetve glifozát- (*Roundup*) -toleráns készítmények használatával kukorica-, illetve napraforgó-kultúrában. Jekkel Zsolt (Bayer) „Az első generációs GM növények és várható hatásuk a hazai növényvédőszer-piac szerkezetére” című előadásában elmondta, hogy az előrejelzések szerint 16%-os növekedés várható a transzgenikus növények világpiacán. Röviden szólt a *Roundup Ready* és a *Liberty Link* kukorica-hibridek piaci megjelenéséről, a transzgenikus fajták előállításának szintjeiről, majd elméleti és technológiai részletekbe menő ismertetést adott a gyomirtó szerrel szembeni rezisztencia kialakításának módszereiről a helyi vonalakban. Érdekes volt ez után az előadás után meghallgatni Roszik Péter

(Biokontroll Hungária Kft.) a biotermesztés, valamint a GM növények és a GM szervezetek származékai közti összefüggésekről szóló előadását. Az ökológiai gazdálkodás főbb jellemzői mellett szó esett a biotermesztés területén érvényes irányelvekről és tilalmi elvekről is. Az előadó az európai és hazai ökológiai gazdálkodás távlati lehetőségeit vázolta mérlegelendő szempontként említette a GMO-mentesség potenciális gazdasági és szakmai előnyeit.

Öri István közigazgatási államtitkár (KvVM) zárószavában összegezte az elhangzottakat, rávilágítva a jogi szabályzás fontosságára, a tudomány szerepére és jelentőségére a biotechnológia környezeti konfliktusainak feltárásában. Kiemelte, hogy a hazai és a nemzetközi szabályzási folyamat nem zárult le, az európai jogharmonizáció keretében további hazai jogszabályok fognak születni. Hangsúlyozta, hogy a jövőben is az elővigyázatosság és az óvatosság elvét kell szem előtt tartani. Az érdeklődő és aktív hallgatóság számára az egyes szekcióüléseket követő, gyakorta élénk, heves viták és a szünetek megfelelő teret engedtek a tanácskozás során elhangzott gondolatok megbeszéléséhez. Összességében elmondható, hogy a jól szervezett és színvonalas szakmai tanácskozás sikeres volt, lehetőséget nyújtott, hogy az érdeklődők megismerhessék a biotechnológia és környezetvédelem közti mélyebb összefüggéseket és az aktuális hazai helyzetet.

Sz. Kükedi Gabriella



EUOLDAL

EUOLDAL néven non-profit kezdeményezés indult: az EUOLDAL weblap egyetlen célja, hogy a magyarországi intézményeknek gyakorlati támogatást nyújtson Európai Unió támogatások megszerzése érdekében. A weblapot ezért kizárólag magyar nyelven készítettük el és tartjuk fenn.

Célunk magyarországi felsőoktatási intézmények, önkormányzatok valamint kis- és középvállalkozások bevonása Európai Unió konzorciumokba az Európai Unió környezetvédelmi, területfejlesztési és vállalkozásösztönző pályázataira és programjaira segítségével.

Oldalunkon napi frissítéssel bemutatjuk a legfrissebb pályázati lehetőségeket, a magyar sikereket. Napi aktualitással közöljük a csatlakozással kapcsolatos híreket, eseményeket, továbbá bemutatjuk a legsikeresebb hazai pályázókat.

Tesszük mindezt egy közös cél érdekében, hogy minél több és minél jobb minőségű, sikerre esélyes magyar projektjavaslat kerüljön beadásra Brüsszelben.

A web-design saját szellemi tulajdonunk, de az oldalak tartalmát mindenki szabadon letöltheti, sokszorosíthatja. Kérdését, hozzászólását örömmel fogadjuk az online fórumon, de megkereshet bennünket közvetlen emailen keresztül is (info@euoldal.hu).

<http://www.euoldal.hu>

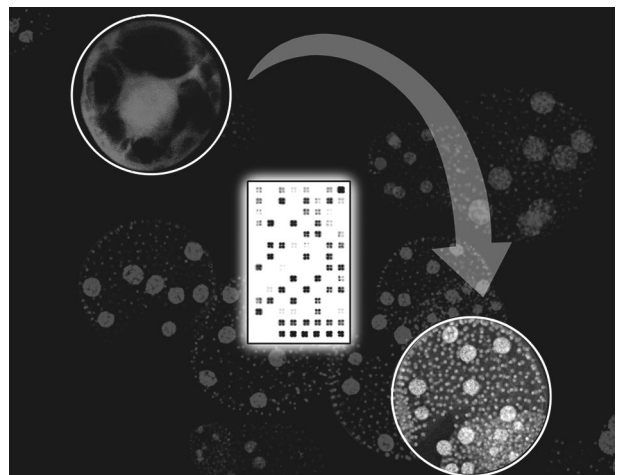
SuperArray – olcsó chiptechnika

A chiptechnológia manapság már nemcsak az informatikában, hanem a biológiai kutatásokban is egyre nagyobb jelentőségű. Az egyetlen chipen lévő mintaszámok tekintetében két irány bontakozott ki: magas denzitású (10–20 ezer gén) és alacsony denzitású (50–100 gén) chip. Az első kategória a teljes genomot vizsgáló kutatóhelyek számára fontos, viszont kiértékeléséhez speciális, drága készüléket kell használni, valamint az adatfeldolgozás is nagy kapacitású számítógépet igényel. A SuperArray a másik irányt vette célba, chipjei az olcsó, alacsony denzitású, alkalmazásspecifikus, fókuszált tesztsoros (array) kategóriáját képviselik (2 x 23 és 96 mintahely, pozitív és negatív kontrollok).

A 300–600 bp hosszú cDNS-darabok precíz technológiával jutnak a nylon membránra. A felvitt szekvenciák adott génre vonatkozó egyediségét számítógépes tervezéssel maximalizálták. Speciális esetekben a kódoló régió kívüli szakaszok is részét képezik a chipre felkerülő cDNS-nek, így igyekezvén a kereszthibridizációt elkerülni. A felvitt minták jelölésére és kiértékelésére kétféle módszer használható. Az izotópos jelölés még mindig olcsó megoldás marad, de sok kutatóintézet nem rendelkezik megfelelő izotóplaboratóriummal. A kemilumineszcenciás mérések viszont minden laboratórium számára hozzáférhetőek, a kiértékeléshez szükséges géldokumentációs rendszer már régóta a molekuláris biológiai laboratóriumok műszerei közé tartozik. A gyári reagensekben (kitekben) a reagensek egy része megtalálható, de például az RNS-izoláló kité, a hibridizációs próbaként használt cDNS előállításához szükséges reverz transzkriptáz enzimet, RNáz-gátlót, DTT és dNTP, valamint a jelöléshez az [α -P32]dCTP vagy a Biotin-16-dUTP reagenseket a felhasználónak kell biztosítania. Mind az RNS izolálásához, mind a reverz transzkripcióhoz használhatók a Promega reagensai, RT technikához kifejezetten javasolja a SuperArray ezen cég termékeit (MMLV és RNAsine). Totál RNS izolálására a Promega SV Total RNA Isolation System oszlopos technológiájú kitéjét, illetve az RNAgents®kitét vagy önállóan csak a denaturáló reagenst ajánljuk.

A SuperArray kétféle mintaszámú termékcsaládot dolgozott ki: (1) Original Series (7 x 8 cm), 2 x 23

minta, pozitív kontroll (GAPDH, β -aktin), negatív kontroll, kitenként két membránt tartalmaz, a membránok megfelelő mosás után még kétszer használhatók; (2) Q Series (3,8 x 4,8 cm), 96 minta, pozitív kontroll (GAPDH, β -aktin, PPIA, RPL13A), negatív kontroll, kitenként 2, 4 vagy 12 membránt tartalmaz, a membránok csak egyszer használhatók. Jelenleg az alábbi kutatási területekhez kínálunk chipeket: apoptózis, stressz és toxicitás, rákkutatás, sejtciklus, szignáltranszdukció, neurobiológia, immunológia, farmakológia, extracelluláris mátrix, oszteogenezis (1. ábra).



1. ábra A különféle alkalmazási területekre (pl. apoptózis) külön-külön kifejlesztett, egyszer használatos SuperArray Q Series tesztrendszer

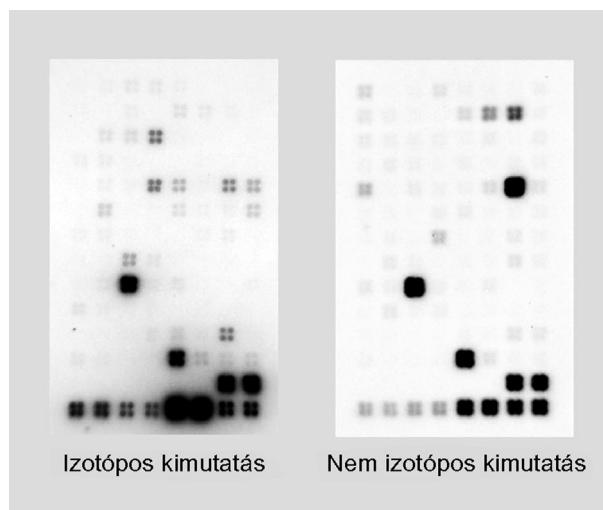
Apoptózis témakörben a programozott sejthalálban szerepet játszó kulcsligandumok, receptorok, intracelluláris modulátorok és transzkripciósfaktorok expressziós profiljának tanulmányozása lehetséges humán és egérminták esetében. A rákkutatás terén lehetőség nyílik olyan szakaszok tanulmányozására, mint a transzformáció, a tumorigenezis és a metasztázis. A bevont gének tumorszuppresszorok, onkogének, szignáltranszdukciós molekulák, növekedési faktorok és receptoraik, valamint angiogenezisfaktorok termeléséért felelősek. Ehhez a témakörhöz tartozik a gyógyszerrezisztencia és -metabolizmus vizsgálata. A sejtosztódás, sejtnövekedés esetében mód nyílik a különböző ciklinek és az ezektől függő kinázok, inhibitorok és foszfatázok profiljának vizsgálatára. A neurobiológusok számára készült chipen az

ioncsatornák, neuropeptidek, neurotróp faktorok és azok receptorainak expressziója mutatható ki. Az immunológusok széles körben tanulmányozhatják a különböző interleukinokat, kemokineket, receptorokat és limfocitikus aktivitású markereket. A sejt–sejt és sejt–szövet kölcsönhatások tanulmányozására használhatók az integrinek, metalloproteinek, proteázok és azok inhibitorainak profilját mutató *chipek*. A toxikológiai és farmakológiai kutatásokban használhatók az endogén és exogén anyagok metabolizmusáért felelős transzporterek és enzimek expressziós mintázatát mutató *chipek*. A folyamatos fejlesztések eredményeként olyan újabb és újabb témakörök tanulmányozására is lehetőség nyílt, mint az osteogenezis, a mellrák és az ösztrogénreceptorok, az asztma, a hypoxia.

A *chiptechnikában* sok egyéb tényező mellett rendkívül fontos a minták jelölése. A hagyományos technika szerint az első cDNS-szál készítése során a reverz transzkriptáz segítségével építik be a jelölt nukleotidokat. A *SuperArray* által kínált új módszer szerint egyetlen első cDNS-szállról lineáris polimeráz replikációval (*linear polymerase replication*, LPR) több jelölt próbát állítanak elő. Az így felszaporított mennyiségű próbák két szempontból is előnyösek: egyrészt 0,1 µg totál RNS már elegendő a megfelelő eredmények eléréséhez, másrészt kellő mennyiségű RNS esetén a kismértékben megjelenő transzkriptumok is kimutathatók. További előnye még az, hogy a *chiptechnikák* hitelesítésére használt RT-PCR eredményeivel nagyobb mértékű korrelációt mutatott, mint a hagyományos jelölést alkalmazó módszer (2. ábra).

A *MultiGene-12™ RT-PCR Profiling Kit* a *chiptechnikával* kapott eredmények hitelesítésére alkalmas reagenskészlet, ugyanis szükséges, hogy a *chípen* észlelt expressziós szint változását ellenőrizzük, amire a *Northern-blot* vagy az RT-PCR technikákat használják. A *Northern-blot* nem alkalmas sok minta gyors átvizsgálására, mivel egyszerre csak egy mintát lehet vizsgálni benne. A multiplex RT-PCR-reakció megtervezése viszont komoly feladat, hiszen ehhez azonos olvadáspontú, specifikus próbákat kell kialakítani. A *SuperArray* pontosan ilyen szempontból optimalizálta a primereket, amellyel 11 gén relatív kifejeződését lehet megállapítani egyszerre 8 mintán. A reakciók száma 96 (a 12. csőben a kontroll található), így egyetlen PCR-reakcióban lefuttathatók. A kísérletekhez szükséges

első cDNS-szál előállításához a Promega reagenseit ajánlja a gyártó. A *kit* az RT-PCR következő lépésének minden reagensét tartalmazza, így a *PCR Mastermix* adalékot és a specifikus primereket 8 darab 12-es szálon (*strip*). A PCR-reakció már a felvivő puffert is tartalmazza, így csak be kell mérni a mintákat a gél zsebeibe, és 40 perc után le is olvashatjuk az eredményeket.



2. ábra Kimutatás a *SuperArray* gél dokumentációs rendszerben, izotópos és nem izotópos (kemilumineszcenciás) jelölés segítségével

A fentiekből kitűnik, hogy a *SuperArray* termékei az alapkutatásban, a klinikai diagnosztikai kutatásban és a farmakológiai kutatásban használhatók. A kutatási programokat segíti a *SuperArray* azzal is, hogy minden területen elérhetővé teszi a *chipeket* humán és egérmintákra egyaránt. Ha a kész *chipek* génkészlete nem megfelelően összeállított, akkor az interneten megtalálható több ezer génből mindenki megtervezheti saját *chipjét*, amit a *SuperArray* kivitelez. Ezt a kész *kitekhez* hasonlóan, minden reagenssel együtt szállítjuk ügyfeleinknek.

Holló Róbert



BIO-SCIENCE

Bio-Science Kft.
1119 Budapest, Andor u. 47–49.
Tel.: 463-5077, 463-5069 Fax: 463-5261
E-mail: bio-sci@bio-science.hu
Internet: www.bio-science.hu

Mintavétel



Minta előkészítés



MIKROBIOLÓGIA MESTERFOKON

AES

Laboratoire

Reagensek



Gyorsteszték

ASAP



ALOA

Inokulálás



Analízis



Ellenőrző műszer



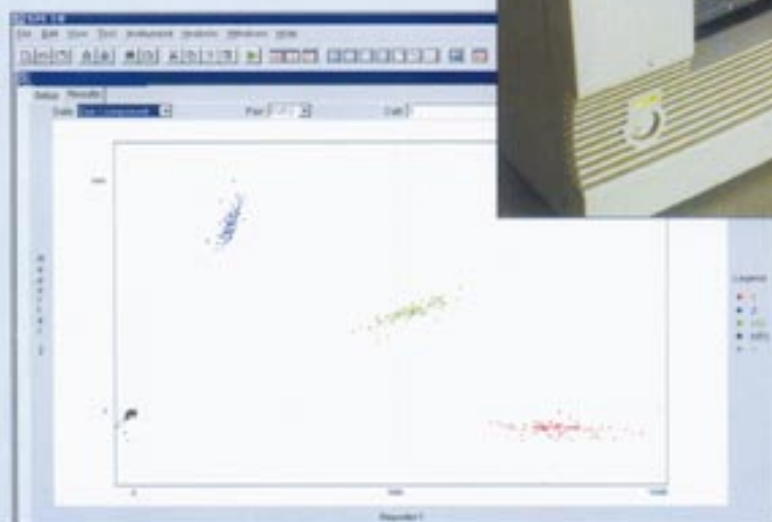
NOVO-LAB

1680 Budapest, Pf.: 21 Tel/fax: 281-3692
E-mail: info@novolab.hu



SNP FELFEDEZÉS ÉS GENOTIPIZÁLÁS

- A komparatív szekvenálás eszközei
- SNaPshot™ Multiplex Kit:
egy nukleotid primer extenzió



- TaqMan® allél-diszkrimináció
- Kész tesztek több mint
120 000 humán SNP-re

Science for Life™

AB Applied
Biosystems

Data. Decoded. Discovery.

Applied Biosystems is committed to providing the world's leading technology and information for life scientists. Applied Biosystems Corporation consists of the Applied Biosystems and Celeris Genomics businesses. The PCR process is covered by patents owned by Roche Molecular Systems, Inc. and Hoffmann-La Roche Ltd. TaqMan is a registered trademark of Roche Molecular Systems, Inc. For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

1146 Budapest, Hermina út 17.
T (1) 471 8989 F (1) 471 8980