

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

XXIX. ÉVF. 3. SZÁM

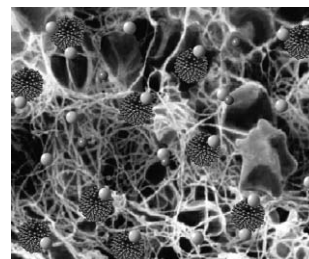
2005. SZEPTEMBER

A tartalomból:

- ◇ Foszfolipid–fehérje kölcsönhatások az artériás trombusok fibrinolitikus rezisztenciájának hátterében – *Várad Balázs és Kolev Kraszimir*
- ◇ Információtároló biomágnesek az élő sejtekben – *Bókkon István*
- ◇ Mesterséges metalloenzimek tervezése, előállítása és vizsgálata – *Gyurcsik Béla*
- ◇ A gyógyszerbiokémia jelene és jövője – *Arányi Péter*
- ◇ Fiatal Biotechnológusok Nívódíja – *Nyeste László*
- ◇ Sigma-díj fiatal kutatóknak – *Székács András*

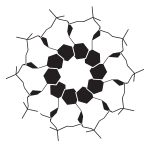
Címlapkép:

Foszfolipidek és a fibrinolitikus rendszer kölcsönhatásai. A foszfolipid-részecskék (vörös gömbök) a trombusban egyenletesen oszlanak el, és méretüknél fogva képesek betölteni a fibrinháló (szürke rostok) pórusait, ezáltal akadályozzák a trombolízisben szerepet játszó plazminogén (arany gömb), plazmin (világoskék gömb), illetve tPA (narancssárga gömb) mozgását a trombus belsejében. A fibrinsálakhoz kötődve a tPA hatékonyan aktiválja a plazminogént, de a negatív töltéssel rendelkező foszfolipid-részecskék alternatív kötőhelyet kínálnak mind a tPA, mind a plazmin számára, így további gátat jelentenek a trombus feloldásában. (ld. a vonatkozó közleményt a 26–31. oldalakon).



Contents:

- ◇ Contribution of protein–phospholipid interactions to the fibrinolytic resistance of arterial thrombi – *Balázs Várad and Kraszimir Kolev*
- ◇ Information storage by biomagnetites in living cells – *István Bókkon*
- ◇ Design, preparation and investigation of artificial metalloenzymes – *Béla Gyurcsik*
- ◇ Present and future in pharmaceutical biochemistry – *Péter Arányi*
- ◇ Award for Young Biotechnologists – *László Nyeste*
- ◇ Sigma Award for young scientists – *András Székács*



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

WEB10
BioScience Portal

Foszfolipid–fehérje kölcsönhatások az artériás trombusok fibrinolitikus rezisztenciájának hátterében

Contribution of protein–phospholipid interactions to the fibrinolytic resistance of arterial thrombi

Váradi Balázs, Kolev Kraszimir

Semmelweis Egyetem, Orvosi Biokémiai Intézet,
1088 Budapest, Puskin u. 9.,
E-mail: kale@puskin.sote.hu

Összefoglalás

A trombolízis jelenségén hagyományosan a trombusok fibrinmátrixának feloldását értjük a plazmin, vagyis egy olyan szerin proteáz enzim segítségével, amely plazminogénaktivátorok hatására keletkezik inaktív prekursorából, a plazminogénből. A plazminogénaktiváció általában az alvadék felszínén történik, és a plazmin is a folyadék–szilárd fázis-határon kezdi el proteolitikus működését. Miután egy felszíni, litikus határreteg kialakult, a fibrin oldása úgy megy végbe, ahogy az e folyamaton keresztül képződő zóna az alvadék belseje felé előrehalad. E folyamat sebessége a részt vevő molekulák diffúziójától függ, ez utóbbit pedig a trombus összetétele befolyásolja. Annak ellenére, hogy a plazminogén/plazmin rendszer szerepéről sok enzimológiai adat áll rendelkezésre, ezek a mai napig nem adnak kielégítő, molekuláris szintű magyarázatot a vérlemezkében gazdag artériás trombusok rezisztenciájára trombolitikus ágensekkel szemben. Nemrégben leírtuk, hogy a vérlemezke eredetű foszfolipidok diffúziós gátat képeznek a trombusban, ugyanakkor megkötik a fibrinolitikus rendszer egyes résztvevőit. A jelenlegi cikkben összefoglaljuk ezen újonnan leírt jelenség biokémiai hátterét.

Váradi, B., Kolev, K.

Semmelweis University, Department of Medical Biochemistry, H-1088 Budapest, Puskin u. 9., Hungary. E-mail: kale@puskin.sote.hu

Summary

Thrombolysis is conventionally regarded as dissolution of the fibrin matrix of thrombi by plasmin, a protease generated by plasminogen activator from its inactive precursor, plasminogen. Typically plasminogen activation occurs on the surface of the clot, and plasmin also initiates its proteolytic action at the fluid-solid interface. Following the formation of an interfacial lytic zone, fibrin dissolution proceeds through propagation of this zone to the core of the clot, which depends on diffusion and permeation phenomena affected by the composition of thrombi. Although the basic reactions of the plasminogen/plasmin system are well characterized in enzymological terms, they cannot explain, at molecular level, completely the thrombolytic resistance of platelet-rich arterial thrombi. We have recently described that phospholipids (originating from platelets) form a diffusion barrier to the thrombolytic agents and also bind some of them. The contribution of these recent findings to our understanding of the biochemical background of thrombolysis is discussed.

Bevezetés

A véralvadási folyamat eredményeként az érfal sérülésének a helyén szilárd vérrög (trombus) képződik, ami gél fázisú fibrinből, és ennek hálójában bezárt sejtes elemekből (vérlemezkék, leukociták, vörösvértestek) áll. A fibrinolízis feladata az, hogy a fibrinháló proteolitikus hasításával eltávolítsa a keletkezett szilárd vérrögöt. Amennyiben a véral-

vadás és a fibrinolízis egyensúlya felborul, vérzékenység, illetve fokozott vérrögződés léphet fel. A trombotikus kórképek (*stroke*, miokardiális infarktus, mélyvénás trombózis és embólia) a fejlett országokban a halálloki statisztikák élén állnak. Ilyen esetekben a terápia a fibrinolitikus folyamat felgyorsításán alapul, aminek végeredménye a vérrög feloldása egy szerin proteáz enzim, a plazmin hatására, valamint az érlumen átjárhatóságának

helyreállítása. A plazmin inaktív zimogén formában (plazminogén) kering a vérben, és különböző plazminogénaktivátorok (többek között szöveti típusú plazminogénaktivátor, tPA) hatására aktíválódik. A fibrinolízis eszerint szétválasztható a plazminogénaktiváció és a fibrinháló lebontásának szakaszaira. A tPA a fibrinháló felszínén halmozódik fel, így a plazminogénaktiváció és a fibrin lebontása a vér és az azzal érintkező szilárd fibrinháló határfelületén megy végbe. A fibrinolízis sebessége függ a fibrin felszínén megkötött plazminogénaktivátor molekulák mennyiségétől, az enzimek diffúziójának sebességétől a trombus belsejébe, a plazminogénaktivátoroknak és a plazminnak a trombus egyéb komponenseivel való kölcsönhatásától. Ebben a cikkben összefoglaljuk és értelmezzük azokat a kölcsönhatásokat, amelyek a fibrinolitikus rendszer enzimeit és a trombusban lévő vérlemezke eredetű foszfolipid között lépnek fel.

A fibrinháló kialakulása

A szivacsos szerkezetű fibrinháló építőkövei a fibrinmonomerek, amelyeknek prekursora a vérben 10 μM koncentrációban található fibrinogén. A fibrinogén három pár polipeptid láncból áll ($\text{A}\alpha$, $\text{B}\beta$, γ), amelyek egymással párhuzamosan helyezkednek el. A molekula pálca alakú, 45 nm hosszú, és 4,5 nm széles [1]. A 3–3 peptidlánc a molekula középső részén diszulfidhidakkal kapcsolódik össze. A fibrinogén–fibrin átalakulás katalizátora a trombin, amely képes a molekula középső részén található $\text{A}\alpha$ -láncok N -terminális végéről egy 16 aminosavból álló peptidet (fibrinopeptid A) lehasítani, ezáltal szabaddá válik a glicin-prolin-arginin aminosavakból álló két „gomb”, amihez két másik fibrinmole-

kula γ -vége tud nem kovalens kötéssel kapcsolódni. Ha további fibrinmonomerek keletkeznek, kialakul az ún. protofibril, ami kétszálú, egymást félig átfedő fibrinmonomerekből tevődik össze [2]. A trombin képes a $\text{B}\beta$ -láncok N -terminális végének a hasítására is, s így olyan kötőhelyek alakulnak ki, ahol több protofibril összekapcsolódhat, vastagabb rostokat alkotva, illetve a fibrinszálak elágazására is ezeken a helyeken nyílik lehetőség. Végeredményként kialakul a szivacsos szerkezetű fibrinháló, ahol az összterefogat 70–80%-át a fibrinszálak közötti pórusokban és a rostokon belüli érszalcsatornában lévő folyadék teszi ki [3]. A fibrinolízisben részt vevő molekulák mérete lehetővé teszi mozgásukat a gélen belüli folyadéktérben. A fibrinszálak vastagságát, hosszát, az elágazások gyakoriságát, a csatornák átmérőjét *in vitro* különböző tényezők befolyásolják: fibrin és a közeg elektrolit- és fehérjetartalma, a trombinkoncentráció [4], a trombusba zárt celluláris elemek. Így a fibrinolízisben szerepet játszó molekulák diffúziója is módosul.

A plazminogén és a plazmin

A plazminogén 92 kDa tömegű glikoprotein, amelyet a máj termel. Koncentrációja a vérben 2 μM . Fontos szerkezeti elemei a plazminogénmolekulának az öt ún. *kringle* domén, amelyek 80 aminosavból állnak. A *kringle* doméneken keresztül képes a plazminogén különböző fehérjék lizin oldalláncjaihoz kötődni, így a fibrinhez is [5,6]. A fibrinhez kötődött plazmin konformációja megváltozik, a molekula hossza megnő [7], ami megkönnyíti aktivációját.

A plazminogénaktivátorok az 561. (arginin) és az 562. (valin) aminosavak közötti peptidkötés elhasításával létrehozzák a két peptidláncból álló plazmint. A két



Váradi Balázs 2001-ben szerzett diplomát a Semmelweis Egyetem Gyógyszerésztudományi Karán. Kutatási munkáját 1999-ben tudományos diákkörös hallgatóként kezdte, majd 2001-től ösztöndíjas PhD-hallgatóként folytatja a Semmelweis Egyetem Orvosi Biokémiai Intézetben. Kutatási témája a trombusban lévő molekuláris elemek fibrinolízist befolyásoló hatásának a vizsgálata.

Kolev Kraszimir 1988-ban végzett a Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Karán. 1991 óta a Semmelweis Egyetem Orvosi Biokémiai Intézet munkatársa. 1996-ban védte meg kandidátusi értekezését a fibrinolízis szabályozása témaköréből. Főbb kutatási területei a fibrinoldás enzimológiája és az ischaemiás endotéliumkárosodás pathobiokémiája. A Magyar Thrombosis és Haemostasis Társaság és az *American Society for Biochemistry and Molecular Biology* tagja. Részen az e cikkben leírt eredményeiért 2005-ben Sanofi-Aventis szakmai díjban részesült az atherotrombózis területén, valamint a Huzella Tivadarról elnevezett emlékérmét és jutalomdíjat nyerte el.



láncot két diszulfidhíd tartja össze. A hasítás miatt bekövetkező konformációváltozás hatására kialakul a molekula aktív centruma, ami a fibrinmolekulákat meghatározott helyeken képes elhasítani.

A plazminogénaktivátorok

Az intravaszkuláris fibrinolízis szempontjából legfontosabb plazminogénaktivátor a szöveti típusú plazminogénaktivátor (tPA). Molekulatömege 68 kDa, legnagyobb mennyiségben az endotélsejtek termelik, koncentrációja a vérplazmában 60 pM [8]. A molekula két *kringle* doménnel rendelkezik, amelyek közül a második képes fibrinhez kötődni [9]. A tPA, bár aktív enzim, önmagában igen gyenge aktivátor, viszont hármass komplexben fibrinnel és plazminogénnel (a fibrin kofaktor szerepet tölt be ebben a folyamatban) az aktivitása jelentősen megnő [10].

A fibrinolízis terminációja

A fibrinolízis leállításáról több inhibitor gondoskodik, ezeknek legnagyobb része az ún. szerpin (szerinproteáz-inhibitor) családba tartozik. Ezek egyláncú glikoproteinek, a célenzimmel ekvimoláris komplexet képeznek, és ezt a komplexet a máj a vérből gyorsan eliminálja. A vérplazmában a plazmin gátlása főleg az α_2 -plazmin-inhibitorral (α_2 -PI) történik [11]. Az α_2 -PI a májban termelődik, a vérbeli koncentrációja 1 μ M. A plazmin- α_2 -PI komplex kialakulása szélsőségesen gyors folyamat, azonban ha a plazmin fibrinhez kapcsolódik, akkor inaktiválásának sebessége kb. két nagyságrenddel csökken [11], tehát a szubsztrátjához kötődött plazmin bizonyos fokig védelmet nyer az inaktiválástól. Továbbá a XIIIa faktor az α_2 -PI-t köti kovalensen a fibrinre [12], így biztosítva védelmet a fibrinhálóknak a túl korai lebontás ellen.

A plazminogénaktiváció fontos inhibitora a plazminogénaktivátor-inhibitor-1 (PAI-1), ami a plazminogénaktivátorral képez komplexet. A szervezetben a PAI-1 legjelentősebb forrásai a vérlemezkék [13], tehát a trombus is nagy mennyiségben tartalmazza.

A fibrinolízis

Szűkebb értelemben a fibrinolízis az a folyamat, amikor a plazmin a fibrinhálót meghatározott kötések mentén elhasítva vízdoldékony darabokká degradálja. A fibrinolízis főleg a fibrinháló-vér

határfelületen zajlik, ezért nehéz meghatározni a folyamatban részt vevő enzimek pontos koncentrációját. A trombus ugyanis az inaktív plazminogént tartalmazza, ahhoz hogy a fibrinolízis meginduljon, a plazminogénaktivátoroknak be kell jutniuk legalább a trombus felszínéhez közeli rétegbe. A tPA méreténél fogva szabadon diffundálhatna a fibrinháló csatornáiban [14], ezt azonban megakadályozza, hogy a tPA nagy affinitással képes a fibrinhez kötődni. A véráram felől közelítő tPA tehát megkötődik a trombus felszínén, és egy vékony rétegben feldúsul, itt töménysége többszöröse is lehet vérbeli koncentrációjának [15]. A fibrinolízis ebben a néhány mikrométer szélességű rétegben indul meg. A tPA aktiválja a plazminogént, a plazmin megkezd a fibrin hasítását, kialakítva ezzel újabb plazminogénkötő helyeket a fibrinen, ez a plazminogénmolekulák felhalmozódásához vezet a fibrin felszínén [16]. A plazmin a fibrinszálakat keresztirányban hasítja, a lehasított részek nagyobb átmérőjű fibrinkötegekké kapcsolódnak össze a végleges leszakadásuk előtt [17]. Ilyen körülmények között a tényleges fibrinolízis a fibrinháló külső, vékony rétegében játszódik le, a fibrinháló lebontása rétegről rétegre történik. A fibrinolízis sebességét befolyásolják a fibrinháló szerkezete, a pórusok nagysága, illetve a trombusba zárt egyéb alkotórészek, amelyek képesek kölcsönhatásba lépni a fibrinolízis enzimjeivel [18]. További befolyásoló tényező a trombussal érintkező vér áramlási sebessége: ez hatással van az enzimek trombusbéli diffúziójára, és a fibrinről lehasított fehérjedarabok leszakadására [19].

A vérlemezkemembrán

Az artériákban keletkező trombusokban nagy mennyiségű vérlemezke található. Számítások szerint egy 400 μ l térfogatú trombus annyi vérlemezkét tartalmaz, mint 10 ml vér [20], tehát a vérlemezkék a trombusban 25-szörös mértékben dúsulnak fel. Ezzel szemben a plazminogén és a tPA koncentrációja a trombusban kisebb, mint a vérben, míg a fibrinogén mennyisége nem változik a vérhez viszonyítva. A trombusba került vérlemezkék kb. 6 óra után elhalnak, sejtalkotó fehérjéik és foszfolipidmembránjuk a trombusba zártan maradnak [21]. Ebből kifolyólag a trombusban nagy mennyiségű foszfolipid van, ennek koncentrációja (tömegre vonatkoztatva) meghaladja a trombus alko-

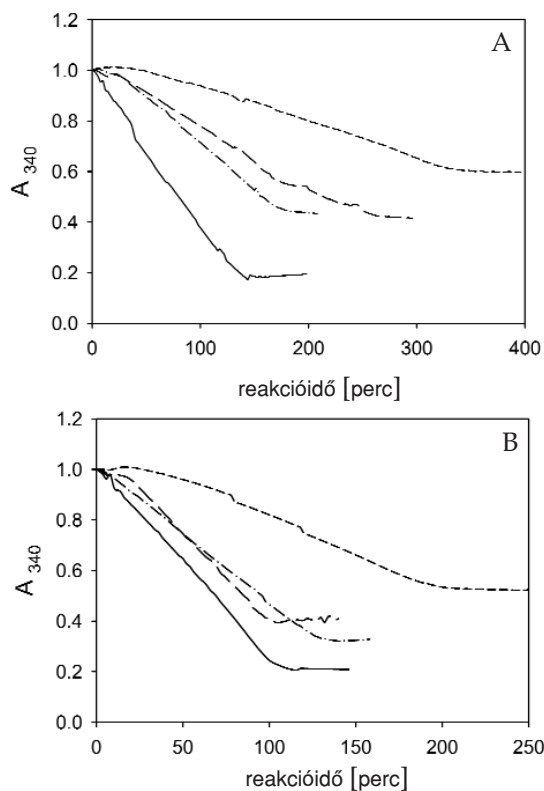
tó fibrin koncentrációját is. Saját adataink szerint [22] egy betegből sebészeti úton eltávolított artériás trombusban jelentős mennyiségű foszfolipid jelenléte mutatható ki: a trombusból készített fagyasztott metszeteken megfestett foszfolipid színintenzitása összemérhető az általunk előállított szintetikus vezikulákat 5 mg/ml töménységben tartalmazó mesterséges fibrinalvadékéval.

A vérlemezkék membránja 83 mol% koncentrációban ikerionos foszfolipideket (foszfatidil-kolin, szfingomielin, foszfatidil-etanolamin) tartalmaz, a maradék 17 mol% egyszeres negatív töltésű foszfolipidekből (foszfatidil-szerin, foszfatidil-inozitol) áll. A foszfolipidmembránok fontos jellemzője a membrán fázisállapota: ez lehet rendezettebb szerkezetű gél vagy magasabb hőmérsékleten fluidabb állagú folyadékkristályos állapot. A membrán olvadáspontját (átmenetihőmérséklet-tartomány a két fázis között) a membrán foszfolipidjeit alkotó telített és telítetlen zsírsavak aránya határozza meg [23]. Minél több a telítetlen zsírsav a membrán foszfolipidjeiben, annál nagyobb a membrán fluiditása és alacsonyabb az olvadáspontja. A vérlemezke-sejtmembrán 40%-ban tartalmaz telítetlen zsírsavakat, ezért a trombocitamembrán testhőmérsékleten folyadékkristályos állapotban van [24], de egyes fehérjék jelenléte vagy vérlemezke-aktiválás hatására a membrán bizonyos részei gél állapotba is kerülhetnek [25].

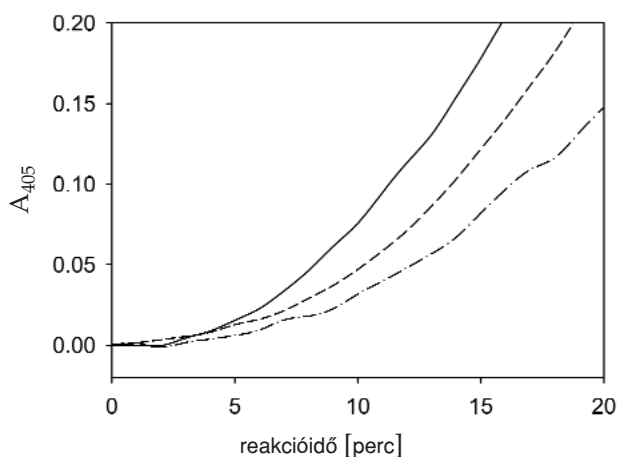
Foszfolipidek és trombolízis

Újnan közétett [22] vizsgálatainkban arra kerestük a választ, hogy a trombusban lévő vérlemezkékből származó foszfolipid hogyan befolyásolja a trombus lebontását, illetve létrejön-e valamilyen kölcsönhatás a fibrinolízis legfontosabb szereplője és a trombus foszfolipid-összetevői között. A kérdés azért is érdekes, mert míg a vérlemezkék foszfolipidjeinek a véralvadás beindításában játszott szerepe régóta ismert és kiterjedten vizsgált [26], addig a fibrinolízisnek ebből a szempontból való vizsgálata elmaradt. Kísérleteinkben mind trombocitamembránnal, mind mesterségesen előállított 50 nm átmérőjű, egyrétegű foszfolipidvezikulákkal dolgoztunk. A szintetikus vezikulák előnye, hogy összetételük változtatásával vizsgálhatjuk a membrán főbb paramétereinek (töltés, fázisállapot) hatásait is. A vezikulák különböző arányban összekevert foszfatidil-kolinból (PC) és foszfatidil-szerinből (PS) álltak.

A fibrinolízis sebességének mérésekor a kísérleti paramétereket úgy állítottuk be, hogy a plazminogén-aktivátor koncentrációja modellezze a terápiásan alkalmazott fibrinolízist, a trombus fibrin- és plazminogéntartalma pedig megegyezzen az *in vivo* mérhető értékekkel. Mesterséges trombusba kevert trombocitaszuspenzió 25 °C-on a fibrinolízist lassítja. Ez részben a vérlemezkék PAI-1-tartalmának köszönhető, azonban a trombocitamembránból izolált fehérjementes foszfolipidek is gátolják a fibrinolízist. A vérlemezke-membránhoz hasonló mértékű gátlást tapasztaltunk szintetikus PC/PS 1:1 arányú keverékével, ahol a foszfatidil-kolin-molekulák 20%-a palmitinsav helyett telítetlen olajsavat tartalmazott. Ennek a keveréknek az olvadáspontja 31 és 33 °C között van, tehát 25 °C-on gél fázisban volt. A kísérletet 37 °C-on megismé-



1. ábra Foszfólipidek hatása a fibrin oldására. A 0,25 μM plazminogént tartalmazó 2 g/l töménységű fibrinogént trombinnal fibrinné alakítottuk és 140 nM koncentrációjú tPA-t rétegeztünk rá. Az alvadék turbiditásának a csökkenése jelzi a keletkező plazmin hatására történő oldás lefolyását. A mérést 25 °C (A) vagy 37 °C (B) hőmérsékleten végeztük. Jelmagyarázat: foszfólipidmentes fibrin (folytonos vonal), trombocitahomogenátumot tartalmazó fibrin (rövid szaggatott vonal), izolált trombocitamembránt tartalmazó fibrin (hosszú szaggatott vonal), szintetikus foszfólipid-vezikulákat tartalmazó fibrin (ponttal szaggatott vonal).



2. ábra Foszfolipidek hatása a plazminogén aktivációjára. Plazminogént tartalmazó, alacsony turbiditású fibrin felszínére tPA és Spectrozyme PL (a plazmin szintetikus szubsztrátja, amiből plazminhasításra p-nitro-anilin keletkezik) keverékét rétegeztünk. A 405 nm hullámhosszon mért abszorbanciaváltozás jelzi a keletkező plazmin aktivitását. Jelmagyarázat: foszfolipidmentes fibrin (folytonos vonal), PC/PS 3:1 arányú keveréket tartalmazó fibrin (szaggatott vonal), PC/PS 1:1 arányú keveréket tartalmazó fibrin (ponttal szaggatott vonal).

telve az izolált membránlipid és a szintetikus foszfolipid gátló hatása eltűnt, emellett a trombocitahomogenátum gátló hatása is mérséklődött (1. ábra). A foszfolipidek befolyásolják a plazmin- α_2 -PI reakciót is. Az előző kísérlettel megegyező körülmények között, ha a fibrin α_2 -PI-t is tartalmaz, akkor az α_2 -PI és a foszfolipid fibrinolízist gátló hatása összeadódik. Mivel a fenti rendszerben a globális trombolízist vizsgáltuk (plazminogénaktivációt és a fibrinolízist), ezekből a kísérletekből nem derül ki, melyik részfolyamat a célpontja a foszfolipid hatásnak. Ezért a plazminogénaktivációt külön is megvizsgáltuk (2. ábra). A fibrinbe kevert foszfolipid gátolja a plazmin kialakulását, a gátlás mértéke arányos a vezikulákban lévő, negatív töltésű PS mennyiségével. Fibrin nélküli tiszta rendszerben ugyanilyen koncentrációban jelen lévő foszfolipid nem befolyásolja a plazminogénaktivációt. A hatások membránszerkezethez kötöttek; vízdékony, rövid zsírsavláncú foszfolipidek nem befolyásolják a folyamatot.

Ha a plazminogénaktivációt a fibrinen kívülről alkalmazott tPA hozzáadásával indukáljuk, akkor a fibrinolízis sebessége annak a fibrinfelszíni zónának a vastagságától is függ, amelyben a plazminogénaktivátorok felhalmozódnak. Ennek a rétegnek a vizsgálatát konfokális lézermikroszkóppal végeztük,

fluoreszcein-izotiocianáttal jelölt plazminnal, illetve tPA adagolásával. 30 perc alatt kialakul e határréteg végső mérete, a plazmin, illetve a tPA nagy része a fibrin e zónájában kötődik meg. A fibrinbe kevert PC/PS 1:1 és PC/PS 3:1 vezikulák a plazmin esetében e rétegvastagságot lecsökkentik 74 nanométerről 34, illetve 39 nanométerre, míg tPA-t alkalmazva csak a PC/PS 1:1 keverék okoz szignifikáns különbséget a határzóna mélységében.

A fibrinolízis sebességét nem kizárólag a fibrinfelszín külső, a fibrinolízis szempontjából aktív rétegnek a vastagsága határozza meg, hanem a fibrinbe diffundált fibrinolitikus enzimek mennyisége is. Ennek méréséhez európiummal jelzett tPA-t és plazmint használtunk fel, majd a diffúziót időbontásos (time-resolved) fluorimetriás eljárás segítségével követtük. A fibrinbe kevert PC/PS 1:1 és 3:1 összetételű vezikulák a fibrinbe diffundált tPA mennyiségét foszfolipidmentes fibrinhez viszonyítva negyedére csökkentik, plazmin esetében a csökkenés mértéke 50%-os. A töltés nélküli PC-vezikuláknak ilyen hatásuk nincs. A felsorolt eredmények egyértelműen arra utalnak, hogy a plazmin és a foszfolipidek, illetve a tPA és a foszfolipidek között intermolekuláris kölcsönhatások lépnek fel. Ezek direkt jellemzésére felületi plazmonrezonanciás (SPR) és mikrokalorimetriás eljárásokat alkalmaztunk. A két módszerrel kapott eredmények részben egybevágóak: a kötődés erőssége arányos a negatív töltésű foszfolipid-frakció mennyiségével. A kaloriméterben végzett mérések nagyobb érzékenysége miatt olyan esetekben is meg lehet határozni a kötődés paramétereit, amikor az SPR módszer már nem jelez egyértelmű kölcsönhatást. Legerősebb kötést a plazmin és az egyrétegű PC/PS 1:1 összetételű keverék között tapasztaltunk, itt a disszociációs egyensúlyi állandó (K_d) értéke nanomoláris tartományba esik. Ugyanilyen nagyságrendben van az egyrétegű PC/PS 3:1 és a plazmin közötti kötés K_d értéke is. Hasonló hatások mérhetők tPA és foszfolipidek között is, itt azonban a kötődés gyengébb (a plazminénál két nagyságrenddel magasabb K_d), ezért érdemi eredményeket csak a kaloriméteres mérés szolgáltatott.

Következtetések

Kísérleteink bebizonyították, hogy a trombusban lévő, vérlemezkékből származó foszfolipidek gátolják a fibrinolízist, ezáltal a trombusban lévő PAI-1 és a fibrinszálakra kötött α_2 -PI összetevőktől

függetlenül biztosítanak stabilitást a trombus számára. A fibrinolízis gátlása két okra vezethető vissza: a trombusban lévő, foszfolipidek gátolják a tPA, plazminogén és a plazmin diffúzióját a fibrinháló csatornáiban, illetve alternatív kötőhelyet biztosítanak a tPA és a plazmin számára (3. ábra). A foszfolipid-vezikulákban a negatív töltéssel rendelkező foszfolipidek aránya és a vezikulák fázisállapota befolyásolja a fibrinolízis gátlásának mértékét, illetve a foszfolipidek szerkezetében a hosszú szénláncú zsírsavaknak a hiánya az általunk mért hatások teljes elvesztésével jár. A kötődési vizsgálatok azt mutatták, hogy a tPA és a plazmin kötődési affinitása arányos a vezikulákban lévő negatív töltésű foszfolipidek mennyiségével. A negatív töltésű foszfolipidek lassítják a fibrinen történő plazminogénaktivációt, szintén a töltésfüggő mértékben, illetve gátolják a plazmin és tPA diffúzióját a trombus belsejébe. A különböző hőmérsékleten elvégzett kísérletek azt bizonyítják, hogy a fibrinolízis maximális gátlásához kis fluiditású membránrendeződés szükséges. Miután a telítetlen zsírsavak jelenléte a membránfluiditást növeli, így a most leírt jelenség összefüggésben lehet a telítetlen zsírsavak kedvező hatásának, az atherotrombózis visszaszorításában.

3. ábra (lásd a címlapon) *Foszfolipidek és a fibrinolitikus rendszer kölcsönhatásai. A foszfolipid-részecskék (vörös gömbök) a trombusban egyenletesen oszlanak el, és méretüknél fogva képesek betölteni a fibrinháló (szürke rostok) pórusait, ezáltal akadályozzák a trombolízisben szerepet játszó plazminogén (arany gömb), plazmin (világoskék gömb), illetve tPA (narancssárga gömb) mozgását a trombus belsejében. A fibrinszálakhoz kötődve a tPA hatékonyan aktiválja a plazminogént, de a negatív töltéssel rendelkező foszfolipid-részecskék alternatív kötőhelyet kínálnak mind a tPA, mind a plazmin számára, így további gátat jelentenek a trombus feloldásában.*

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak Prof. Machovich Raymundnak a kézirattal kapcsolatban tett kritikai észrevételeiért.

Irodalomjegyzék

- [1] Spraggon, G., Everse, S. J., Doolittle, R. F. (1997) *Nature*, **389**: 455–462.
- [2] Brown, J. H., Volkmann, N., Jun, G., Henschen-Edman, A. H., Cohen, C. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 85–90.
- [3] Guthold, M., Liu, W., Stephens, B., Lord, S. T., Hantgan, R. R., Erie, D. A., Taylor Jr., R. M., Superfine, R. (2004) *Biophys. J.*, **87**: 4226–4236.
- [4] Baradet, T. C., Haselgrove, J. C., Weisel, J. W. (1995) *Biophys. J.*, **68**: 1551–1560.
- [5] Patthy, L., Trexler, M., Vali, Z., Banyai, L., Varadi A. (1984) *FEBS Letters*, **171**: 131–136.
- [6] Wu, H. L., Chang, B. I., Wu, D. H., Chang, L. C., Gong, C. C., Lou, K. L., Shi, G. Y. (1990) *J. Biol. Chem.*, **265**: 19658–19664.
- [7] Mangel, W. F., Lin, B., Ramakrishnan, V. (1990) *Science*, **248**: 69–73.
- [8] Robbie, L. A., Bennett, B., Croll, A. M., Brown, P. A. J., Booth, N. A. (1996) *Thromb. Haemost.*, **75**: 127–133.
- [9] Medved, L., Nieuwenhuizen, W. (2003) *Thromb. Haemost.*, **89**: 409–419.
- [10] Camiolo, S. M., Thorsen, S., Astrup, T. (1971) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **138**: 277–280.
- [11] Kolev, K., Léránt, I., Tenekejev, K., Machovich, R. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**: 17030–17034.
- [12] Sakata, Y., Aoki, N. (1980) *J. Clin. Invest.*, **65**: 290–297.
- [13] Booth, N. A., Simpson, A. J., Croll, A., Bennett, B., MacGregor, I. R. (1988) *Br. J. Haematol.*, **70**: 327–333.
- [14] Matveyev, M. Y., Domogatsky, S. P. (1992) *Biophys. J.*, **63**: 862–863.
- [15] Sakharov, D. V., Nagelkerke, J. F., Rijken, D. C. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**: 2133–2138.
- [16] Sakharov, D. V., Rijken, D. C. (1995) *Circulation*, **92**: 1883–1890.
- [17] Veklich, Y., Francis, C. W., White, J., Weisel, J. W. (1998) *Blood*, **92**: 4721–4729.
- [18] Kolev, K., Machovich, R. (2003) *Thromb. Haemost.*, **89**: 610–621.
- [19] Komorowicz, E., Kolev, K., Léránt, I., Machovich, R. (1998) *Circ. Res.*, **82**: 1102–1108.
- [20] McBane, R. D., II, Ford, M. A. P., Karnicki, K., Stewart, M., Owen, W. G. (2000) *Thromb. Haemost.*, **84**: 83–87.
- [21] Skarlatos, S. I., Rao, R., Dickens, B. F., Kruth, H. S. (1993) *Virchows Arch.* **64**: 241–245.
- [22] Váradi, B., Kolev, K., Tenekejev, K., Mészáros, Gy., Kovalszky, L., Longstaff, C., Machovich, R. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**: 39863–39871.
- [23] Crowe, J. H., Tablin, F., Tsvetkova, N., Oliver, A. E., Walker, N., Crowe, L. M. (1999) *Cryobiology*, **38**: 180–191.
- [24] Mahadevappa, V. G., Holub, B. J. (1982) *Biochim. Biophys. Acta*, **713**: 73–79.
- [25] Nathan, I., Fleischer, G., Livne, A., Dvilansky, A., Parola, A. H. (1979) *J. Biol. Chem.*, **254**: 9822–9828.
- [26] Lentz, B. R. (2003) *Prog. Lipid Res.*, **42**: 423–438.



MEGHÍVÓ

a **Tankó Béla** biokémikus születésének 100. évfordulója alkalmából rendezett emlékülésre és Tankó Béla mellszobrának azt követő felavatására.

2005. november 23-án 14 óra

Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum
I. sz. Belgyógyászati Klinika

Előadók: Fésüs László, akadémikus, Prof. Gaál Botond, Lipták András, akadémikus, Prof. Nánási Pál, Prof. Aradi János, Friedrich Péter, akadémikus

Információtároló biomágnesek az élő sejtekben

Information storage by biomagnetites in living cells

Bókkon István

Semmelweis Egyetem, Kooperációs Kutatási
Központ, 1367 Budapest 5, Pf. 131,
E-mail: bokkoni@yahoo.com

Összefoglalás

A sejtekben képződő különféle kristályok kialakulása általános jelenség. Egyes kristálytípusok mint a vese- vagy az epekő stb. betegséget okoznak, mások funkcionális szerepet töltenek be a sejtek életében. A nanovilág – ahova az élő sejtek is tartoznak – felfedezett szokatlan tulajdonságai mutatnak rá arra, hogy a sejtekben a szerves és a szervetlen szabályozó folyamatok összekapcsolódhatnak. Az élő sejtek inkább „kvantummechanikai készülékek”, mintsem egyszerű elektromos rendszerek. A cikk rámutat arra, hogy az élő sejtben minden feltétel adott ahhoz, hogy a szerves molekulák és a szervetlen biokristályok között operációs kapcsolat álljon fenn, és a biomágnesek mint információtárolók működjenek a kvantumfizikai Aharonov-Bohm-effektus révén.

Bókkon, I.

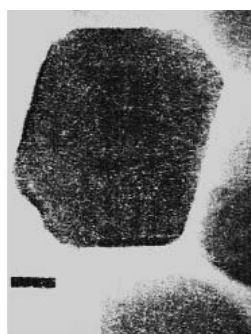
Semmelweis University, Cooperative Research
Center, H-1367 Budapest 5, POB. 131, Hungary
E-mail: bokkoni@yahoo.com

Summary

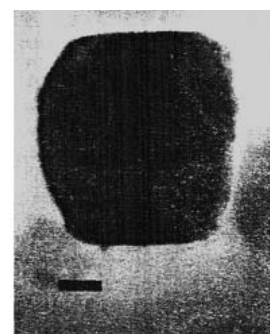
The formation of various biocrystals appears to be a universal phenomenon. Biocrystals may play a possible role not only in the pathological events of cells, but also in their functional operation. Unusual features of the nanoscale world indicate that cells are able to connect organic and inorganic regulational processes. Living cells can be considered quantum “devices” rather than simple electronic devices. This paper points out that every condition is given to propose that an operational connection exists between the organic and the inorganic materials in the living cells. In addition, it suggests a mechanism on the basis of the Aharonov-Bohm effect of biomagnetites as they can take part in the fixation of magnetic information processes in the cells.

Bevezetés

Mikor az élő szervezetben keletkezett kristályokról hallunk – melyeket hibás biokémiai folyamatok vagy mikrobák okoznak – különféle betegségek képe rémlik fel előttünk [1,2], pedig számos (bio)kristálynak funkcionális szerepe van. Egyes kutatásoknál a baktériumokban képződő tökéletes szerkezetű bionanomágneseket (biokristályokat) információtároló egységekként akarják felhasználni a számítógépekben [3]. Ha ezek a biomágnesek komputerekben képesek működni, miért hinnénk azt, hogy az élő sejtekben haszontalan képződmények. Joseph Kirschvink [4–7], aki több évtizede kutatja a biomágneseket az élő rendszerekben, a baktériumoktól, halaktól, madaraktól kezdve az emberi agyig számos organizmusban mutatta ki és izolálta a biomágneseket (1. ábra). Kirschvink rámutatott arra, hogy biomágnesek fontos szerepet kapnak abban, ahogy az élőlények a földi mágneses teret érzékelik [4,5].



*Aquaspirillum
magnetotacticum*



Homo sapiens

1. ábra Szinte tökéletesen egyforma nanobiomágnesek egy baktériumból és az emberi agyból [7].

Számításai szerint az emberi agy minden grammja 5 millió vas-oxid-kristályt (Fe_3O_4) tartalmaz, 10–100 nanométer közötti átmérővel [6,7]. Amint az már sok évvel ezelőtt fölmerült, a biomágnesek a bakteriális magnetoszóma polaritásának öröklődésében is részt vehetnek [8,9]. Ez volt az első olyan lehetőség –

„*Heredity without genes*” –, ahol az öröklődő információ rögzítése nem DNS-szinten történt, hanem a biomágnesekben, az utódsejtekben mégis DNS-szinten is manifesztálódott a mágneses információ. Bárhogyan is legyen, felmerül a kérdés, miért van minden emberi agyban több milliárd, tökéletes szerkezetű biomágneses nanokristály [10].

Magnetobiológiai problémák

Az élő sejtek életében betöltött mágnesség szerepéről keveset tudunk. A magnetobiológia paradoxonja, hogy a gyenge – például a Föld mágneses tere – vagy az ultragyenge elektromágneses sugárzások befolyásolják az élő sejt folyamatait. Látszólag ellentmond ennek az a tény, hogy a hőmérséklet-fluktuáció random jellegű, és az általa képviselt termikus energia (kT) tíz nagyságrenddel nagyobb, mint a váltóáramú mágneses mező energiakvantumjai [11]. Vajon ez a folyamatos és a mágneses erőterhez képest jelentős tényező miért nem rombolja le a magnetobiológiai hatásokat? Miért nem rombolják le a mesterséges, erős elektromágneses hatások az élő sejtek folyamatait, miközben a sejtek érzékelik mind a gyenge, mind az erős elektromágneses tereket? Számos modell alakult ki arról, hogy hogyan hat a gyenge mágneses sugárzás a sejtek biokémiai folyamataira. Néhány ezek közül: biomágnesek segítségével, Eddy-féle elektromos árammal, klasszikus és kvantumoszillációkkal, ciklotronrezonancia útján, interferenciával a kötött ionok és elektronok kvantumállapotain, koherens kvantumgerjesztéssel, magnetoszenzitív szabadgyökökkel stb. [12]. E modellek sajnos nem tudták megoldani az alapproblémákat, aminek az lehet az oka, hogy a sejtekben az információ különböző formákat ölthet – elektromos, mágneses, elektromágneses, mechanikai –, melyek egymásba kölcsönösen átalakulhatnak, így a kérdésre csak a modellek együttese szolgáltathat majd megoldást.

Kirschvink szerint a biomágnesek ionkapukat nyitnak-zárnak, miközben érzékelik a Föld mágneses

terét [5]. Ez a modell is ellentmondásos, mert a Föld mágneses tere nem elég erős ahhoz, hogy a biomágneseken megfelelő mágneses forgatónyomatékok hozzon létre.

Kérdés az is, hol és hogyan rögzítődik a mágneses információ. Egy baktérium esetében még egyszerű lehet a válasz, hisz nincs szükség mágneses térképre, a biomágnesek csak mágneses navigációs folyamatokat irányítanak (magnetotaxis). De hogyan talál vissza egy költöző madár az agyában lévő biomágnesek segítségével több ezer kilométer távolságból, egy adott város, adott házának ereszéhez. Valamint, a baktériumokban található biomágnesekhez teljesen hasonló szerkezetű, az emberi agyban található sok milliárd biomágnesnek mi a funkciója és miképp működik.

A kísérletek szerint az emberi agy a Föld mágneses terénél százmilliószor gyengébb (femtoTesla nagyságrendű) mágneses jeleket használ működésénél [13], ugyanakkor NMR-vizsgálatok szerint képes kompenzálni a Föld mágneses térerősségénél, nagyságrendekkel erősebb, 5–14 Tesla erősségű mágneses tereket. Ez utóbbi tény önmagában kérdésessé teszi az ionkapumodellt, hiszen az NMR-vizsgálatok alatt ilyen nagy mágneses térerőnél az agyban lévő összes biomágnes egy irányba állna, és bekövetkezne az agy kollapszusa.

A modern kutatások rávilágítanak arra, hogy az élő sejtek képesek mindarra, amire napjaink nanotechnológiája. Az élő sejtek képesek elektromos, mágneses, elektromágneses és akusztikus jeleket létrehozni, felhasználni és kölcsönösen egymásba alakítani működésük során. Ezek figyelembevételével közelebb juthatunk a mágnességnek élő folyamatokban betöltött, ma még rejtélyes szerepéhez.

Nanotechnológia az élő sejtekben?

A DNS, RNS és fehérjék a paramágneses tulajdonság mellett félvezető és piezoelektromos tulajdonságokat is mutatnak [14–17]. A piezoelektromosság lehe-



Bókkon István 1989-ben végzett mint vegyészmérnök és 1991-ben mint okleveles biológus mérnök a Budapesti Műszaki Egyetemen. Környezetvédőként, magántanárként és az Országos Közegészségügyi Központ kutatójaként dolgozott. Jelenleg a Semmelweis Egyetem Kooperációs Kutató Központ PhD-ösztöndíjasaként nikkeltájakat kutat a sejtek osztódási központjában. Interdiszciplináris elméleti kutatómunkájában távol álló tudományterületeket köt össze. Vallja, hogy nem az a baj, ha tíz gondolatból kilenc új tévedés, hanem az, ha egy sem új közülük. Annyi bizonyos, bármerre kutat, mindig biokristályokkal találkozik.

tővé teszi, hogy az elektromágneses rezgések mechanikai rezgésekké alakuljanak és fordítva, vagy a mechanikai rezgések elektromos rezgésekké és fordítva. A szerves félvezető molekulák kristályszerű struktúrájukkal és elektromos vezetőségükkel diódaként működhetnek a sejtekben. Az elektromos mezők képesek a félvezető molekulák elektromos és elasztikus tulajdonságait megváltoztatni.

Az elektromosság az élő sejtek alaptulajdonsága, hiszen a legtöbb biomolekula ionos vagy nagy dipólusmomentumú közegbe ágyazott. Fizikai törvény, hogy mikor egy elektromosan töltött részecske változó sebességgel mozog, elektromágneses teret hoz létre maga körül. Így adódik, hogy a sejtekben folyamatosan keletkezik ultragyenge, inkoherens elektromágneses sugárzás. A biokémiai reakciók koherens jellege, ultrarövid femtoszekundumos tartományban általános jelenség a sejteknél, mely alapja annak, hogy a sejtek koherens, lézerszerű ultragyenge elektromágneses sugárzást is képesek előállítani [18–24]. A sejtek által előállított koherens (lézerszerű) és inkoherens elektromágneses sugárzásokat hívjuk biofotonoknak. A sejtekben keletkező mágneses terek szabad gyököktől, paramágneses fehérjéktől, biomágnesektől és a szerves molekulák szerkezetében lévő fémionoktól származhatnak.

Akusztikus hullámok mint konformációs rezgések/változások a makromolekulákban is léteznek, s ezeket konformonoknak nevezik, a szilárd kristályokban fellépő fononok (a rezgési energiakvantumjai) rácsvibrációinak analógiájára [25]. A félvezető proteinekben keletkező felületi akusztikus hullámok képesek a biofotonok (optikai jelek) atomkötött módon történő tárolására, majd időben és térben távolabb újra optikai jelként elengedni a biofotont [26].

A sejtmembrán kettős lipidrétegei kváziszigetelőként működnek, vezető és nem vezető részekkel, és nem lineáris áram-feszültség karakterisztikát mutatnak [27]. A citoplazma strukturált, folyadék-kristály-szerkezetű, amely félvezető polimerpolimerekből áll, rendezett víz-/ionoldatba ágyazva [28,29].

A felsoroltakból láthatjuk, hogy a sejtek képesek elektromos, mágneses, elektromágneses és akusztikus jeleket előállítani, felhasználni, és bármelyik típusú jelet a másik típusba konvertálni a működésük során. Cliento szerint [30] a biokémiai reakciók úgy játszódnak le, hogy az átmeneti molekulakomplexeit a molekulákat környező biofoton-

fürdőből a specifikus biofotonok gerjesztik, majd a molekula a környezetnek megfelelő egyensúlyi állapotba tér vissza.

Néhány lehetséges válasz a magneto-biológia kérdéseire

A femtoszekundumos reakcióidő az, ami lehetővé teszi, hogy a hőmérsékleti fluktuáció hatása elkerülhető legyen, azaz a termodinamikai kontroll helyett a kinetikai kontroll érvényesüljön. Emellett a femtoszekundumos reakcióidő koherens jellege biztosítja a koherens lézerszerű ultragyenge biofotonok létrehozását is.

A fraktálrendszerek a legjobb, igazolt modelljei az élő és nem élő struktúráknak. A fraktálstruktúrák képesek ellenállni az erős erőknek, ugyanakkor gyenge erőket felhasználni [31–33]. Ez a tulajdonság választ adhat arra, hogy az élő sejtek gyenge erőkkel dolgoznak, gyenge külső erőket fel tudnak használni, ugyanakkor erős külső erőknek ellenállni.

Minden rugalmas rendszer, molekula, sejt, szerv stb. rendelkezik egy saját frekvenciával, melyen a legerősebb az energiafelvétel, az információközvetítés. A specifikus gyenge erők érzékelésében és a biológiai specificitásban ez döntő szerepet játszhat. A sejtet jellemző molekuláris tartományban a biokémiai és mechanikai (konformonok) szabályzások nem megkülönböztethetőek [34]. A citoszkeláris váz – melynek mentén a legfontosabb jelvezető enzimek, a kinázok és foszfatázok lokalizáltak – egy paramágneses, rugószerű hálózat, amely egy mechano-elektro-optikai konveterhálózatnak is tekinthető. A konverter sajátfrekvenciája folyamatosan változik, ami a konformációk folyamatos változásából adódik. A vázolt hálózat alkalmas a specifikus gyenge mágneses jelek felhasználására és fel erősítésére, amplifikációjára.

Biokristályok képződése a sejtekben

A biomágnesek tökéletes struktúrája és mágneses tulajdonsága arra utal, hogy felépülésük precíz biológiai kontroll útján alakul ki a sejtben [35,36]. A nanotechnológiai kísérlet szerint femtoszekundumos lézerpulzálás hatására a határfelületi elektronok a szerves anyagból az azt körülvevő szerves anyagba lépnek át, és ott mint polaronok 1000 femtoszekundum ideig képesek tartózkodni [37]. A kutatók állítják, hogy ez a jelenség lehet-

seges a biokémiai folyamatoknál is. Mivel a sejtekben lévő biomágnesek közvetlen kapcsolatban állnak az őket környező félvezető, piezoelektromos szerves proteinekkel és a kváziszigetelő lipidmolekulákkal, adódik a következtetés, hogy az elektronok segítségével operációs kapcsolat jöhet létre a szerves és szervetlen biomágnesek között.

A sejtekben nemcsak elektronok segítségével létesülhet operációs kapcsolat a szerves és szervetlen anyagok között, hanem elektromágneses úton is. Az élő sejtek által előállított koherens biofotonok a szintén nanotechnológiából ismert, úgynevezett holografikus litográfia (biokristályok képzése a sejtekben nem azonos síkbeli biofotonok interferenciája révén) útján is kialakulhatnak [38]. Az elektromágneses (biofoton) útján történő kristályformálás lehetőségét erősíti meg az is, hogy *in vitro* kísérletben a gyenge elektromágneses mezők közvetlenül befolyásolják a kristályképződés kinetikáját. [39].

A nanoméret-tartományban az anyagok szokatlan, nem lineáris elektromos, mágneses tulajdonságai tűnnek fel, melyet kvantumhatások, megváltozott termodinamika és módosult kémiai reakciók jellemeznek. Ugyanakkor ez az a tartomány, ahol a szerves és szervetlen anyagok közötti határok eltűnnek és operációs/információs kapcsolatok hozhatók létre.

Biomágnesek mint információtárolók és az Aharonov–Bohm-effektus

A kvantumfizikai Aharonov–Bohm-effektus lényege [40], hogy amikor egy statikus mágnesdarab mágneses terét teljesen leárnyékolják, akkor is megmarad egy hatás, amely megváltoztatja az elektronok hullámfázisát. Ezt a hatást mágneses vektorpotenciálnak nevezik, s alapvetőbb tulajdonság, mint a mágnesesség. Az effektus nemcsak azt teszi lehetővé, hogy a sejtek érzékeljék a gyenge geomágnesességet, hanem azt is, hogy a biomágnesek mágneses információtárolókként működjenek. A következőkben nézzük meg ezt a modellt, miképp működhet ez egy költöző madár esetében.

Mikor elérkezik a költöző madár vándorlásának ideje, a madár agysejtjeiben elkezdődik a biomágnesek sejt által irányított, lassú extrakcióval történő kialakulása, melynek irányításában a szerves molekulák fontos szerepet töltenek be. A hosszú repülés alatt a biomágnesek lassan kialakuló rétegeiben a

nem vezető elektronok hullámfázisai a Föld aktuális mágneses terének (és vektorpotenciáljának) megfelelően rögzítődnek. A költöző madár visszautjakra a Föld aktuális mágneses terei (vektorpotenciáljai), Aharonov–Bohm-típusú elektromos ellenállás-oszcillációt [41] indukálnak a biomágnesek megfelelő rétegeiben rögzített nem vezető elektronokon. Ezután szintén a nanotechnológiából ismert lehetőség szerint [42] a biomágnesben oszcilláló fixált elektronok mint szórési oldalak működnek, és polarizálják a biomágnesben lévő mozgó elektronokat. Majd a mozgó, spinpolarizált elektronok koherensen transzportálódnak a biomágnes körüli félvezető paramágneses fehérjékbe. Ennek hatására megváltozik a biomágneset körülvevő fehérjék konformációs állapota. Ezt követően a citoszkeláris váz mentén megtörténik a jelamplifikáció konformonok és a biofotonok segítségével, majd a sejtek között, a sejteket összekötő hálózatban rezonanciatranszfer révén [43–45], mely végeredményképpen navigálja a madarat. Vagyis a jelamplifikáció elektromechanikai, elektrooptikai és elektrokémiai úton valósul meg.

A valóságban, kooperációs úton, számos biomágnes működik közre a vázolt modellben. A kísérletek szerint a nanoméretű, kétdimenziós tartományban a mágneses nanorészecskék között a magnetosztatikus kölcsönhatások (vonzás, taszítás) elhanyagolhatók [46], így a mágneses vektorpotenciál játszhatja a főszerepet a vázolt modellben. A kísérletek szerint az Aharonov–Bohm-típusú oszcillációval nagy mennyiségű információ tárolható a mágneses molekulaklaszterekben [47]. Valószínű, hogy az Aharonov–Bohm-effektus egyéb, a sejtekben történő mágneses folyamatoknál is fontos szerepet tölt be. Szeretném hangsúlyozni, hogy a vázolt modellben elegendő, ha csak egyetlen vándorlási út mágneses térképe rögzítődik a madár agyában lévő biomágnesekben. Nagyon valószínű, hogy a biomágnesek szerepet játszanak abban, hogy néha a bálnák kiúsznak a partra, ami nem öngyilkosság, hanem mágneses navigációs hiba.

Egyre több kutató vallja, hogy az élő sejtek inkább nanoméretű „kvantumkészülékek”, mintsem egyszerű elektromos rendszerek. 2003-ban Biró és munkatársai [48] arról számoltak be, hogy a pillangók szárnyai természetes kvantumfotonikus kristályokat tartalmaznak, melyeknek lényeges hatása van a lepke hőmérsékletének szabályozásában. Bár lehet, hogy az élő sejtek kutatóinak még

bonyolultabb folyamatokkal kell szembenéznük a nanovilág törvényszerűségeit figyelembe véve, ezzel együtt számos új lehetőség is felmerül a gyógyítás terén. Úgy tűnik, hogy a szervesetlen biokristályok még sok meglepetést rejtenek az élő sejtekben játszott szerepükkel kapcsolatban, ahogy a bio-piezokristályok holografikus információátvitellel kapcsolatos lehetősége kapcsán is [49,50].

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondok Prof. Kéri Györgynek, aki elsőként nyújtott anyagi segítő kezét, bizalmat és lehetőséget, hogy a gyakorlatban is elkezdődjön annak bizonyítása, amiért sok évet ültem az íróasztal mögött.

Irodalomjegyzék

- [1] Bókkon, I. (2002) A nanobaktériumok világa. *Biokémia*, **26**: 35–42.
- [2] Anderson, H. C. (1988) Mechanism of pathologic calcification. *Rheum. Dis. Clin. North. Am.*, **2**: 303–319.
- [3] Field, M., Smith, C. J., Awschalom, D. D., Mendelson, N. H., Mayes, E. L., Davis, S. A., Mann, S. (1998) Ordering nanometer-scale magnets using bacterial thread templates. *Appl. Phys. Lett.*, **73**: 1739–1741.
- [4] Kirschvink, J. L. (1980) South-seeking magnetic bacteria. *J. Exp. Biol.*, **86**: 345–347.
- [5] Kirschvink, J. L., Jones, D. S., MacFadden, B. J. (Eds.) (1985) Magnetite biomineralization and magnetoreception in organisms: A new biomagnetism. (Plenum Press, New York)
- [6] Kirschvink, J. L., Kirschvink, A., Woodford, B. (1992) Magnetite biomineralization in the human brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**: 7683–7687.
- [7] Kirschvink, J. L., Kobayashi-Kirschvink, A., Diaz-Ricci, J. C., Kirschvink, S. J. (1992) Magnetite in human tissues. *Bioelectromagnetics*, **1**: 101–113.
- [8] Nanney, D. L. (1985) Heredity without genes: ciliate explorations of clonal heredity. (Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam) pp. 295–298.
- [9] Hedges, R. W. (1985) Inheritance of magnetosome polarity in magnetotrophic bacteria. *J. Theor. Biol.*, **112**: 607–608.
- [10] Dunn, J. R., Fuller, M., Zoeger, J., Dobson, J., Heller, F., Hammann, J., Caine, E., Moskowit, B. M. (1995) Magnetic material in the human hippocampus. *Brain. Res. Bull.*, **36**: 149–153.
- [11] Adair, K. R. (1993) Effects of ELF magnetic fields on biological magnetite. *Bioelectromagnetics*, **14**: 1–4.
- [12] Binhi, V. N. (1999) An analytical survey of theoretical studies in the area of magnetoreception. In: *Electromagnetic Fields: Biological Effects and Hygienic Standardization*. (Repacholi. M. H., Rubtsova, N. B., Muc, A. M., Eds.) (World Health Organization, Geneva, Switzerland) pp. 155–170.
- [13] Hahneiser, O., Kohlsmann, S., Hetscher, M., Kramer, K. D. (1995) Development and application of a SQUID sensor array for the measurement of biomagnetic fields. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **37**: 51–53.
- [14] Fukada, E. (1995) Piezoelectricity of biopolymers. *Biorheology*, **32**: 593–609.
- [15] Shamos, M. H., Lavine, L. S. (1967) Piezoelectricity as a fundamental property of biological tissues. *Nature*, **213**: 267–269.
- [16] Fink, H. W., Schönenberger, C. (1999) Electrical conduction through DNA molecules. *Nature*, **398**: 407–410.
- [17] Szent-Györgyi, A. (1983) *Az anyag élő állapota*. Magvető Kiadó, Budapest.
- [18] Kobayashi, M., Takeda, M., Ito, K., Kato, H., Inaba, H. (1999) Two-dimensional photon counting imaging and spatiotemporal characterization of ultraweak photon emission from a rat's brain *in vivo*. *J. Neurosci. Methods*, **93**: 163–168.
- [19] Popp, F. A., Yan, Y. (2002) Delayed luminescence of biological systems in terms of coherent states. *Physics Letters A*, **293**: 93–97.
- [20] Kobayashi, M., Takeda, M., Sato, T., Yamazaki, Y., Kaneko, K., Ito, K., Kato, H., Inaba, H. (1999) *In vivo* imaging of spontaneous ultraweak photon emission from a rat's brain correlated with cerebral energy metabolism and oxidative stress. *Neurosci. Res.*, **34**: 103–113.
- [21] Kim, J. D., Lim, J., Sung, B., Soh, K. S. (2003) Biophoton emission from rat liver. *J. Korean Phys. Soc.*, **42**: 427–430.
- [22] Vos, M. H., Rappaport, F., Lambry, J. Ch., Breton, J., Martin, J. L. (1993) Visualization of coherent nuclear motion in a membrane protein by femtosecond spectroscopy. *Nature*, **363**: 320–325.
- [23] Popp, F. A., Ruth, B., Bahr, W., Böhm, J., Grass, P., Grolig, G., Rattemeyer, M., Schmidt, H. G., Wulle, P. (1981) Emission of visible and ultraviolet radiation by active biological systems. *Collective Phenomena*, **3**: 187–214.
- [24] Grundler, W., Kaiser, F., Keilmann, F., Walleczek, J. (1992) Mechanisms of electromagnetic interaction with cellular systems. *Naturwissenschaften*, **79**: 551–559.
- [25] Clark, I. J. (1996) The geometric curvature of microtubules may play a part in information processing. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **41**: 59–61.
- [26] John, S., Burstein, E., Weisbuch, C. (Eds.) (1995) Localization of light in disordered and periodic dielectrics, confined electrons and photons. (Plenum Press, New York)
- [27] Bordi, F., Cametti, C., Natali, F. (1996) Electrical conductivity and ion permeation in planar lipid membranes. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **41**: 197–200.
- [28] Ho, M. W., Haffeege, J., Newton, R., Zhou, Y., Bolton, J. S., Ross, S. (1996) Organisms as polyphasic crystals. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **41**: 81–91.
- [29] Booth, Ch., Raynes, P. (1997) Liquid-crystals displays. *Physics World*, **1977**: 33–37.
- [30] Cliento, G. (1988) Photobiochemistry without light. *Experientia*, **44**: 572–576.
- [31] Dewey, T. G. (1993) Fractal aspect of protein structure and dynamics. *Fractals*, **1**: 179–189.
- [32] Mandelbrot, B. (1982) *The fractal geometry of nature*. (Freeman, San Francisco)
- [33] West, B. J., Goldberger, A. L. (1987) Physiology in fractals dimensions. *Amer. Scientist*, **75**: 354–365.
- [34] Forgács, G. (2001) Fizikai folyamatok az intracelluláris jel- és energiaátvitelben. *Fizikai Szemle*, **7**: 204–209.
- [35] Mann, S., Frankel, R. B., Blakemore, R. P. (1984) Structure, morphology and crystal growth of bacterial magnetite. *Nature*, **310**: 405–407.
- [36] Kirschvink, J. L. (1989) Magnetite biomineralization and geomagnetic sensitivity in higher animals: An update and recommendation for future study. *Bioelectromagnetics*, **10**: 239–260.
- [37] Ge, N-H., Wong, C. M., Lingle, R. L., McNeill, J. D., Gaffney, K. J., Harris, C. B. (1998) Femtosecond dynamics of electron localization at interfaces. *Science*, **279**: 202–205.
- [38] Campbell, M., Sharp, D. N., Harrison, M. T., Denning, R. G., Turbfield, A. (2000) Fabrication of photonic crystals for the visible spectrum by holographic lithography. *Nature*, **404**: 53–56.
- [39] Berton, R., Beruto, D., Bianco, B., Chiabrera, A., Giordani, M. (1993) Effect of ELF electromagnetic exposure on precipitation of barium oxalate. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **30**: 13–25.
- [40] Imry, Y., Webb, R. A. (1989) Quantum interference and the Aharonov-Bohm effect. *Sci. Amer.*, **260**: 36–42.
- [41] Manyala, N., Sidis, Y., DiTusa, J. F., Aeppli, G., Young, D. P., Fisk, Z. (2000) Magnetoresistance from quantum interference effects in ferromagnets. *Nature*, **406**: 581–584.
- [42] Tsukagoshi, K., Alphenaar, B. W., Ago, H. (2000) Coherent transport of electron spin in a ferromagnetically contacted carbon nanotube. *Nature*, **401**: 572–574.
- [43] Fröhlich, H., Kremer, F. (Eds.) (1983) *Coherent excitations in biological systems*. (Springer-Verlag, Berlin)
- [44] Fröhlich, H. (Ed.) (1988) *Biological coherence and response to external stimuli*. (Springer-Verlag, Berlin)
- [45] Fröhlich, H. (1968) Long-range coherence and energy storage in biological systems. *Int. J. Quant. Chem.*, **2**: 641–649.
- [46] Stamm, C., Marty, M., Vaterlaus, A., Weich, V., Egger, S., Maier, U., Ramsperger, U., Fuhrmann, H., Pescia, D. (1998) Two-dimensional magnetic particles. *Science*, **282**: 449–451.
- [47] Wernsdorfer, W., Sessoli, R. (1999) Quantum phase interference and parity effects in magnetic molecular clusters. *Science*, **284**: 133–135.
- [48] Biró, L. P., Bálint, Zs., Kertész, K., Vértessy, Z., Márk, G. I., Horváth, Z. E., Balázs, J., Méhn, D., Kiricsi, I., Lousse, V., Vigneron, J-P. (2003) Role of photonic-crystal-type structures in the thermal regulation of a *Lycaenid* butterfly sister species pair. *Phys. Rev. E*, **67**: 021907 1–7.
- [49] Bókkon, I. (2003) Creative information. *J. Biol. Systems*, **11**: 1–17.
- [50] Bókkon, I. (2000) Tudatos és tudatalatti információátvitellel az agyban. *Biokémia*, **24**: 79–83.

Mesterséges metalloenzimek tervezése, előállítása és vizsgálata

Design, preparation and investigation of artificial metalloenzymes

Gyurcsik Béla

Szegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, 6720 Szeged, Dóm tér 7.
Postacím: 6701 Szeged, Pf. 440
E-mail: gyurcsik@chem.u-szeged.hu

Összefoglalás

A fémiontartalmú fehérjék kis molekulatömegű fémkomplexekkel történő modellezése során a metalloenzimek aktív centrumának számos szerkezeti és funkcionális tulajdonságát sikerült megismerni. A modellvegyületek számos esetben aktívabbnak bizonyultak a természetes makromolekuláknál is. Azonban míg a katalizált kémiai reakció típusa a fémionok és a koordinációs környezet által jól meghatározott, addig az esetek többségében e fémkomplexek nem mutatnak semmiféle szubsztrát-specifikusságot vagy -szelektivitást. Ezért szükség van egy olyan egység kialakítására, mely ez utóbbi sajátságot biztosítja, hogy a vegyületünket joggal nevezhessük enzimnek.

A legtöbb fémion erős Lewis-sav tulajdonságát a természet a hidrolitikus folyamatokban használja, melyeket az ún. hidroláz enzimek szabályoznak. Ezen fehérjék közül is kitüntetett szerep jut a fehérjéket lebontó proteázoknak, illetve a foszfátészterkötést hasító foszfatáz vagy nukleáz enzimeknek. Munkánk során a biokoordinációs kémiai modellezés és a molekuláris biológia területén szerzett ismereteinket ötvözve olyan fémionkötő makromolekulákat próbáltunk meg tervezni és előállítani, melyek majd a nukleinsavak szekvenciaspecifikus hidrolízisét lesznek képesek katalizálni.

Bevezetés

A fémionok számos enzim, az ún. metalloenzimek aktivitásához nélkülözhetetlenek. Fő szerepük, hogy stabilizálják a fehérjék aktív konformációját és kialakítsák a katalitikus centrumot. A természet a fémionok kínálta számos tulajdonságot (Lewis-sav-bázis sajátság, redox viselkedés, gyökgeneráló képesség) használta fel az életfolyamatokban.

Gyurcsik, B.

University of Szeged, Department of Inorganic and Analytical Chemistry, H-6720 Szeged, Dóm tér 7, Hungary, Postal address: H-6701 Szeged, POB. 440, Hungary. E-mail: gyurcsik@chem.u-szeged.hu

Summary

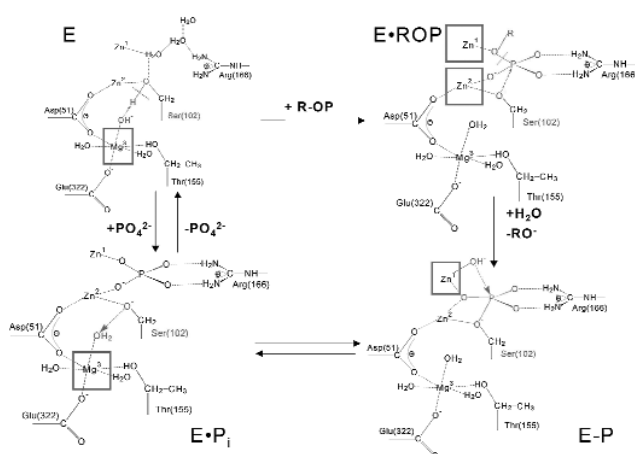
Numerous structural and functional properties of the active center of metalloenzymes have been discovered by modeling of metal ion containing proteins with low molecular weight metal complexes. In some cases the model compounds proved to be even more active than the natural macromolecules themselves. However, while the type of the catalyzed reaction is well defined by the metal ions and their coordination environment, the metal complexes in most cases did not exert substrate specificity or selectivity. For this reason it is necessary to attach a unit ensuring the above property, in order the new compound to be called an enzyme.

Most of the metal ions are strong Lewis acids, a behavior used in the control of hydrolytic processes by hydrolase enzymes in nature. Among these, special attention is devoted to proteases (metabolizing proteins) and phosphatase or nuclease enzymes cleaving the phosphate ester bonds. Applying knowledge collected in biocoordination chemistry modeling studies and in molecular biology, we tried to design and prepare metal binding macromolecules that will be able to catalyze the hydrolysis of nucleic acids in a sequence specific manner.

A foszfoészteráz enzimek, azaz a foszfátészter kötések hidrolitikus hasításáért felelős makromolekulák szintén az aktív centrumban többnyire fémiont vagy fémionokat tartalmazó fehérjék. A fémionok szerepe a katalitikus folyamatban többszörös: (i) a szubsztrátmolekula megkötése, térbeli elrendezése, valamint elektrosztatikus aktiválása, (ii) a folyamat során képződő átmeneti termék, vala-

mint a távozó csoport stabilizálása és (iii) támadó nukleofil reaktáns (többnyire hidroxidion) generálása a koordinálódott vízmolekula deprotonálódásának elősegítése révén [1]. A természetben általában megfigyelhető, hogy e folyamatot leghatásosabban a többmagvú fémcentrumot tartalmazó enzimek katalizálják. Itt ugyanis a fémionok egymás hatását erősíthetik oly módon, hogy a különböző funkciókat megosztják egymás között. Jó példái ennek az alkalikus foszfatáz és a bíbor savfoszfatáz enzimek.

Az alkalikus foszfatáz enzim aktív helyén két Zn^{2+} - és egy Mg^{2+} -iont tartalmaz. A Zn^{2+} -ionok szerepe a szubsztrát megkötése és semlegesítése, valamint a foszforán intermedier, illetve a távozó csoport stabilizálása. A támadó nukleofil szerepét egy protonját elveszített szerin-alkoholát oldallánc tölti be. Bár az enzim szerkezetét röntgendiffrakciós mérésekből ismerték [2], sokáig mégis azt gondolták, hogy a Mg^{2+} -ion nem vesz részt a katalitikus reakcióban, pusztán szerkezetalakító szerepet játszik, és a szerin oldalláncának deprotonálódása a Zn^{2+} -koordináció révén valósul meg. Azonban egy nemrég megjelent 1,75 Å felbontású kristályszerkezet alapján egyértelművé vált, hogy a Mg^{2+} -ion szolgáltatja az elsődleges nukleofilként a Ser(102) oldalláncát támadó hidroxidiont, ami az alkoholos hidroxilcsoport protonját elvonja, kialakítva a foszforatomot támadó másodlagos nukleofil reaktánst (1. ábra) [3]. Mindez jól indokolja az enzim működésének lúgos pH-optimumát. Érdekesség még, hogy az enzim-szubsztrát komplexben ($E \cdot ROP$) koordinálódó alkohol kilépése után a szóban forgó Zn^{2+} -ion a koordinációs szférájában egy hidroxidiont alakít ki, mely a foszforatomot támadva a kovalens köztitermek ($E \cdot P$) felbomlását idézi elő, vagyis a fémionok szerepe a mechanizmus egyes lépéseiben változik.



1. ábra Az alkalikus foszfatáz enzim javasolt reakciómechanizmusának sematikus ábrája [3].

A bíbor savfoszfatáz enzimcsalád tagjainak aktív központjában egy Fe^{3+} -ion és egy M^{2+} -ion ($M = Zn, Fe, Mn$) található egymástól mintegy 3,3 Å távolságra (2. ábra). Egyértelmű, hogy ezen enzimek savas pH-optimumát a $Fe(III)$ -ionok erős Lewis-sav tulajdonsága okozza, valamint ugyanez az ion felelős a bíbor szín kialakulásáért ($Y(tyr) \rightarrow Fe^{3+}$ töltésátviteli sáv). A Zn^{2+} szerepe minden bizonynyal a szubsztrátum megkötése és elektrosztatikus aktiválása a labilisan kötött vízmolekula helyén.

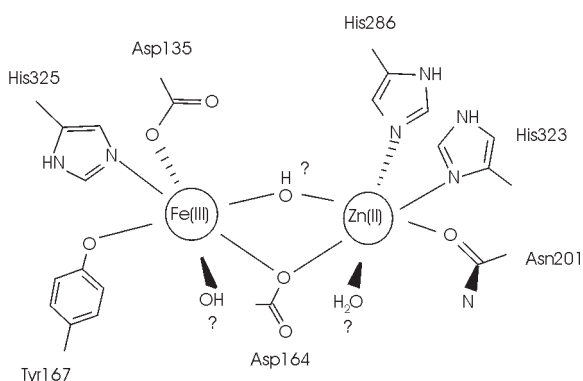
Azt is fontos megfigyelni, hogy az egyes fémionkötő aminosavak a fehérjeláncban meglehetősen távol találhatóak, azonban a térbeli szerkezet sajátossága révén a fémionok részére egy olyan köthely alakul ki, mely megfelelő kinetikai és termodinamikai stabilitást biztosít az enzim hatékony működéséhez.

A foszfoészteráz enzimek modellje

Az ilyen makromolekulák kis molekulatömegű vegyületekkel történő szerkezeti és funkcionális mo-



Gyurcsik Béla a szegedi József Attila Tudományegyetemen végzett 1990-ben, vegyészként. 1998-ban a kémiai tudomány kandidátusa címet a „Horgony donorcsoportok szerepe a cukortípusú ligandumok koordinációs kémiájában” című disszertációja alapján nyerte el. 1993-ban a Magyar Tudományos Akadémia Ifjúsági Díjában, 2004-ben pedig az MTA – Richter Gedeon Rt. által alapított Ifjúsági Bruckner-díjban részesült. Jelenleg Békésy-ösztöndíjas és a Szegedi Tudományegyetem Szeretlen és Analitikai Kémiai Tanszékének adjunktusa. 1996/97-ben 15 hónapot töltött DANVIS ösztöndíjjal a Dán Királyi Állatorvosi és Agrártudományi Egyetem Kémiai Intézetében, ahol oligopeptidek fémionkötő tulajdonságait tanulmányozta, majd 2000-ben egy évig a *Tokyo Institute of Technology* Biológiai Információs Intézetében UNESCO-ösztöndíjként az „International Course in Chemistry and Chemical Engineering” kurzuson vett részt, ahol a molekuláris biológia módszereinek alkalmazásával állított elő módosított adeno-vírusfehérjéket, és vizsgálta azok kölcsönhatását DNS- és fehérjemolekulákkal.



2. ábra Sematikus ábra a spanyolbabor bíbor savfoszfátáz enzimének aktív centrumáról a röntgenkristallográfiai vizsgálatok nyomán [4,5].

dellezése a tanszékünkön működő bioszervetlen kémiai kutatócsoport egyik fő profilja. A kis molekulatömegű modellek számos előnnyel bírnak a természetes makromolekuláris rendszerekkel szemben: viszonylag olcsón és egyszerűen előállíthatók nagy mennyiségben, és ezért könnyen tanulmányozhatók. A modellek révén a természetes enzimek működésének számos aspektusa megismerhető, de akár iparilag felhasználható biokatalizátorok előállítására is reményt szolgáltatnak.

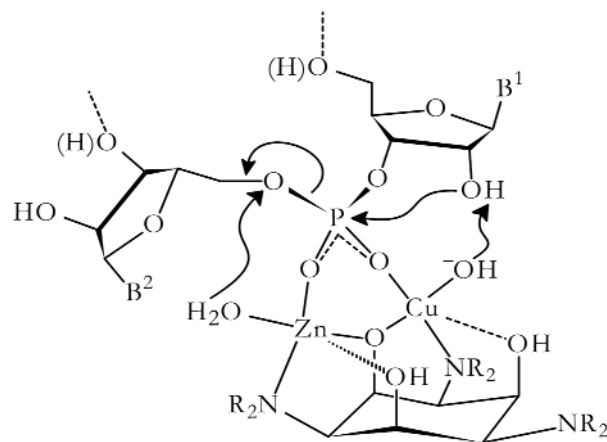
Kézenfekvőnek tűnhet a fehérjék modelljeiként kis tagszámú peptidmolekulákat választani, azonban ezen anyagok fémkomplexeiről hamarosan kiderült, hogy a koordinációs mód mellett főként a kinetikai sajátágaik térnek el a természetes vegyületektől. Az egyik legfontosabb eltérés a peptid és a fehérjék között az *N*- és *C*-terminális donorcsoportok szerepe a fémmel való kölcsönhatás során. A fehérjék ugyanis kevés kivétellel kizárólag az oldalláncaikban található donorcsoportok segítségével koordinálódnak, míg a peptidok esetén az amin- és karboxilátcsoportok ún. horgony szerepet játszanak a fémmel megkötésében [6]. Emellett a kis tagszámú peptidok nem képesek stabil térszerkezet kialakítására, ezért fémkomplexeik kinetikailag instabilak, ami gyakran a fémmel hidrolíziséhez vezet fiziológiai körülmények között. Másrészt azok a fémmel, melyeknél a fenti folyamat nem következik be, gyakran képesek a peptid nitrogénkoordinációját deprotonálás révén előidézni – ezzel viszont a Lewis-savasságuk lényegesen csökken, ami nem kedvez a katalízisnek. A peptidokba koordinálódó, oldallánccal rendelkező aminosavakat

beépítve, a fenti előnytelen tulajdonságokat bizonyos mértékben módosíthatjuk, azonban hatékony modelleket így módon nem sikerült előállítani [7].

A fentiekben felsoroltak miatt a modellezés iránya az elmúlt időszakban a szintetikus szerves vegyületek felé fordult. Számos, főleg heterociklusos gyűrűt tartalmazó vegyületet próbáltak ki, de cukortípusú vegyületek vagy makrociklusok is gyakran merültek fel az irodalomban. Az aromás gyűrűket vagy telítetlen kötésekkel előszeretettel alkalmazták ezekben a vegyületekben a szerkezet merevítése céljából. Hivatkozásként itt a teljesség igénye nélkül mindössze néhány összefoglaló közlemény kerül felsorolásra [8–10]. Kutatócsoportunk a többmagvú fémmel kialakítására képes vegyületek előállítását részesítette előnyben, melyekre vonatkozó eredményeink alapján sikerült igen jó szerkezeti és funkcionális foszfoészteráz modelleket létrehozni [11–12]. Jó példát mutat a fémmel modellkomplexben történő együttműködésére a kristályszerkezet alapján javasolt mechanizmus egyszerűsített ábrája (3. ábra). Habár történtek utalások arra nézve, hogy ez a hasítás hidrolitikus mechanizmus szerint játszódik le, illetve hogy a fentiekhez hasonló modellvegyületek bizonyos bázisszekvencia-szelektivitást mutatnak a DNS-molekula hasítása során, [13–15], ezeket nem sikerült egyértelműen és reprodukálhatóan bizonyítani.

Mesterséges enzimek tervezése

Amennyiben olyan hidrolitikus komplexet sikerül előállítani, amely DNS-molekulákat szekvencia-specifikusan hasít, ligálható végeket létrehozva, az



3. ábra Egy kétmagvú heteronukleáris fémkomplex fémmel kooperatív hatása a dinukleotid szubsztrátum hidrolízisé során [12].

új utakat nyitna meg a géntechnológiában (géntervezés, rekombináns DNS-technika, génterápia). A DNS-részlet felismerésére a megoldást egy olyan, a hasító részhez kapcsolt molekularészlet kialakítása jelentené, mely erősen és specifikusan kötődik a DNS-szubsztrátum egy jól meghatározott részletéhez.

Több, már alkalmazott lehetőség is kínálkozik, ugyanis a DNS szekvenciaspecifikus felismerése számos egyéb területen is nagy érdeklődést váltott ki. (i) Már egy viszonylag rövid, kb. 17 bázist tartalmazó oligonukleotid hordozó molekula teljes specifikusságot biztosítana akár egy humán méretű genom esetén is. Az oligonukleotidok hibridizációját majd a nukleinsavon végzett módosítást használják ki az ún. antiszensz módszernél is gyógyításra, több-kevesebb sikerrel [16]. Ez az eljárás azonban túl bonyolultnak bizonyult ahhoz, hogy általánosítható legyen. (ii) Az oligonukleotidokhoz hasonló molekulák a peptid-nukleinsavakból vagy a nukleobázis-aminosavakból összeállított pszeudopeptidek, melyek nukleobázis-oldalláncai alakítanak ki specifikus kölcsönhatást a DNS-molekulával. Számos ilyen anyagot állítottak elő a nukleinsavak felismerése és erős megkötése céljából [17,18]. (iii) További lehetőség, hogy a hidrolitikus egységet egy olyan nukleinsavkötő fehérjéhez kapcsolják, amely vagy szubsztrát- [19], vagy akár egyedi szekvenciaspecifikusságot eredményez [20]. Itt azonban felmerül a kérdés, vajon a fehérjemolekula módosítható-e anélkül, hogy a fenti tulajdonságait elveszítse, illetve hogy az új molekulának lesz-e hidrolitikus aktivitása. A hordozót és a katalitikus egységet mindhárom esetben kémiai úton kapcsolják össze. Ezek az eljárások meglehetősen bonyolultak, nagy anyagmennyiséget igényelnek, emiatt igen költségesek. Továbbá például a terápiás célokra történő alkalmazás is veszélybe kerül, hiszen a fenti anyagokat nehéz a sejtbe bejuttatni. Ez utóbbi tudományterületen hazánkban is számos kutatócsoport dolgozik [21].

A fentiek megoldása érdekében, úgy tűnik, mégis célszerű lenne peptidmolekulákból kialakított hidrolitikus egységeket alkalmazni, hisz belőlük a specifikus enzimek az (i) és (ii) esetben szilárd hordozón (például szilárd fázisú peptidszintézis), míg a (iii) esetben a rekombináns DNS-technikát alkalmazva egyszerűen előállíthatók. A fenti módszereket felhasználva a hidrolitikus egység az új, mester-

séges enzim szekvenciájának, illetve szerkezetének tetszőleges pozíciójába beépíthető, csökkentve így annak valószínűségét, hogy a fehérje egyes kívánt tulajdonságait elveszítené a módosítás során.

Visszaérünk tehát a fémionkötő peptidmolekulák előállításának kérdéséhez. Kísérleteink a hosszabb oligopeptidekkel [22], valamint a koordinálódó oldallánccokat nagy sűrűségben tartalmazó peptidekkel [23] biztatóak. A fémion(ok) megfelelő helyzetben történő, stabil megkötésére alkalmas peptidmolekulákat a koordinációs kémiai tapasztalatokat, valamint a természetes enzimek jól megőrzött aktív központjainak szerkezetét figyelembe véve a modern molekuladinamika és kvantummechanika eszközeinek alkalmazásával próbáljuk meg nemzetközi együttműködésben megtervezni [24]. Hasonló kutatások jelenleg is folynak világszerte néhány kutatócsoportban a hordozók tervezése céljából, melyekben különösen nagy szerep jut a cink-ujjfehérjék módosításainak [25,26].

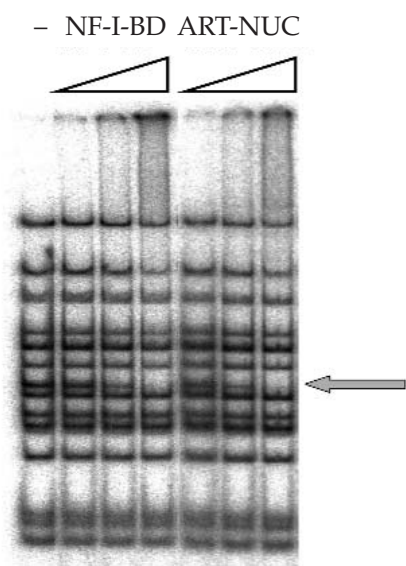
Olyan kísérletekről is van tudomásunk, melyekben ún. kimer peptideket [27,28] vagy fehérjéket [29] állítottak elő specifikus célok elérésére, de általánosan alkalmazható módszerről nem tesznek említést az irodalomban. Az általunk javasolt módszerrel a molekuláris biológia vívmányait alkalmazva a fémionok jelenlétében hidrolitikus hatással rendelkező peptidszekvenciák genetikai kódját hordozóba beépítve, ahhoz első lépésben tetszőleges fehérjemolekula genetikai kódja csatolható.

Mesterséges enzimek előállítása és vizsgálata

Az általunk előállított egyik ilyen mesterséges nukleáz enzimnek szánt fehérjemolekula a *Nuclear Factor I* nevű, specifikus bázisrendet felismerő fehérje [20] DNS-kötő doménjéből (NF-I-BD) és egy, a bíbor savfoszfátázok kétmagvú aktív központjának mintájára készült peptidből tevődik össze. A fémionkötő, 20 aminosavból álló oligopeptid-molekula aminosavsorrendje a következő: YKDPPTDHLQ-DVLDLPHHN. Ez a peptid tartalmazza a 2. ábrán feltüntetett aminosavakat, és az előzetes molekuladinamikai számítások szerint képes olyan stabil gerinckonformáció kialakítására, melyben a két fémion részére egy hídligandummal (a 10-es helyzetben lévő aszparaginsav) összekapcsolt kötőhely jön létre.

A gének előállítása polimeráz láncreakcióban történt, majd azokat egy pGEX-6P1 (Amersham Biosciences) GST-génfúziós rendszerbe klónoztuk. Ezután a fehérjetermelés és -tisztítás körülményeit optimalizálva tiszta fehérjét nyertünk, mely N-terminális részén egy glutation-S-transzferáz (GST) enzimet tartalmaz fúziós tagként, míg az NFI-I-BD C-terminális végén a fenti peptidszekvenciát tartalmazta, és amelyet az ART-NUC fantázianévvel illettünk. A GST a tisztítási lépéseket könnyíti meg, ugyanis segítségével affinitáskromatográfiás módszerrel nagy tisztaságú fehérjét nyerhetünk, de számos egyéb előnyös tulajdonsággal bír, ami elősegítheti egy mesterséges hidrolitikus enzim nukleázként való működését. Ilyen előny például, hogy a GST maga is dimerként funkcionál, továbbá hogy a dimerben a két GST-molekula C-terminális végei a térnek ugyanabba az irányába mutatnak [30]. Ez elősegíti a mesterséges nukleáz dimerizációját a természetes enzimek mintájára.

Első lépésként az előállított fúziós fehérje DNS-kötő tulajdonságait vizsgáltuk meg. A kísérlet célja eldönteni, vajon a NF-I-BD megőrizte-e specifikus bázisszekvencia-felismerő képességét, vagy a módosított fehérjében ezt, esetleg még a DNS-kötő tulajdonságát is elveszítette. A fentiek kiderítése cél-



4. ábra A fehérje–DNS elegyek nem denaturáló poliakrilamid gél elektroforézisének képe: A – jelű oszlopban lévő DNS-elegy nem tartalmazott fehérjét, míg a 2–4., valamint 5–7., oszlopokban az NF-I-BD, illetve az ART-NUC fehérjék növekvő mennyiségben kerültek a DNS-elegybe.

jából a fehérjénket (ART-NUC), illetve a GST-NF-I-BD fehérjét egy olyan DNS-keverékkel inkubáltunk, melyek közül egyetlen DNS-fragmens tartalmazza a fehérjefelismerési helyet. Az elegyet ezután nem denaturáló poliakrilamid gélen elektroforézisnek vetettük alá (4. ábra).

Azt tapasztalhattuk, hogy a fehérjék koncentrációját növelve azok DNS-molekulát kötöttek meg, ami a kiindulási ponthoz képest alig mozdult el, míg a szabad DNS-molekulák a – jellel jelölt, fehérjét nem tartalmazó kontrollkísérlettel megegyező helyen találhatóak meg. A fehérjénk jelenlétében a szabadon mozgó DNS-elegyből csak egyetlen fragmens hiányzik, melyet az ábrán nyíllal jelöltünk, és amely tartalmazza a fent említett felismerési helyet.

Következtetés, távlatok

A fentiek alapján megállapítható, hogy a GST fúziós fehérje, illetve a C-terminális részre beépített fémionkötő oligopeptid-molekula nem befolyásolja a NF-I-BD bázisszekvencia-felismerő tulajdonságát, ami reményt ad arra, hogy e fehérje megfelelő körülmények között, fémion jelenlétében a DNS specifikus hidrolízisére is alkalmas lesz. A továbbiakban újabb peptideket tervezünk előállítani, és mindenképp ezek fémionkötő, valamint katalitikus tulajdonságát tervezzük tanulmányozni. A már alkalmazott molekulatervezés módszere mellett rövidebb fehérjedomének kiválasztását és előállítását is elképzelhetőnek tartjuk. Lehetőséget nyújt erre az olyan endonukleáz enzimek családja, ahol a hidrolitikus funkció jól meghatározott fémtartalmú peptid-részlethez kapcsolódik [31]. Egy ilyen peptidmolekula genetikai kódját hordozóba juttatva, ahhoz nemcsak ismert szerkezetű és funkciójú nukleinsavkötő fehérjék kapcsolhatók. Ebben az esetben épp a fehérje–nukleinsav kölcsönhatás megléte és minősége tanulmányozható. A teljes specifikussággal bíró mesterséges enzimek genetikai kódját – például egy módosított adenovírushordozó révén – beteg sejtbe is bejuttathatjuk [32]. E módon az új fehérjék terápiás célokra is alkalmazhatók olyan betegségek, mint például a rák vagy egyes vírusos fertőzések esetén.

Köszönetnyilvánítás

A közlemény a Bruckner-kör 2004. november 24-ei rendezvényén megtartott előadás alapján készült. A bemutatott saját eredmények az OTKA T043232 pályázat támogatásával jöttek létre. Köszönettel

tartozom továbbá a témában együttműködő, illetve együttműködni szándékozó hazai és külföldi kutatócsoportoknak: Dr. Kiss Antal (Szegedi Biológiai Kutatóintézet), Dr. Ilze Vosekalna (Lett Tudományos Akadémia Szerves Kémiai Intézete), Dr. Lubomir Rulisek, (Cseh Tudományos Akadémia Bioszerves Kémiai Intézete), Prof. Kyosuke Nagata (Tsukubai Egyetem, Fertőző Biológiai Intézete, Japán), Prof. Hans Erik Molager Christensen (Dán Műszaki Egyetem, Bioszervetlen Kémiai Intézete).

Irodalomjegyzék

- [1] Gajda, T. (2000) Fém tartalmú foszfoészteráz enzimek funkcionális modellezésének irányai. *Acta Pharm. Hung.*, **70**: 109–118.
- [2] Kim, E. E., Wyckoff, H. W. (1991) Reaction mechanism of alkaline phosphatase based on crystal structures: Two-metal ion catalysis. *J. Mol. Biol.*, **218**: 449–464.
- [3] Stec, B., Holtz, K. M., Kantrowitz, E. R. (2000) A revised mechanism for the alkaline phosphatase reaction involving three metal ions. *J. Mol. Biol.*, **299**: 1303–1311.
- [4] Strater, N., Klabunde, T., Tucker, P., Witzel, H., Krebs, B. (1995) Crystal-structure of a purple acid-phosphatase containing a dinuclear Fe(III)-Zn(II) active-site. *Science*, **268**: 1489–1492.
- [5] Strater, N., Klabunde, T., Krebs, B., Witzel, H. (1995) Structural relationship between the mammalian Fe(III)-Fe(II) and the Fe(III)-Zn(II) plant purple acid phosphatases. *FEBS Lett.*, **367**: 56–60.
- [6] Sóvágó, I. (1990) Metal complexes of peptides and their derivatives. In: *Biocoordination Chemistry*. (Burger, K., Ed.) (Ellis Horwood, London) Chapter IV, pp. 135–184.
- [7] Kozłowski, H., Bal, W., Dyba, M., Kowalik-Jankowska, T. (1999) Specific structure-stability relations in metallopeptides. *Coord. Chem. Rev.*, **184**: 319–346.
- [8] Cowan, J. A. (2001) Chemical nucleases. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **5**: 634–642.
- [9] Kimura, E. (2000) Dimetallic hydrolases and their models. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **4**: 207–213.
- [10] Ott R., Krämer, R. (1999) DNA hydrolysis by inorganic catalysts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **52**: 761–767.
- [11] Török, I., Gajda, T., Gyurcsik, B., Tóth, G. K., Péter, A. (1998) Metal complexes of imidazole ligands containing histamine-like donor sets: equilibrium, solution structure and hydrolytic activity. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1998**: 1205–1212.
- [12] Jancsó, A., Mikkola, S., Lönnberg, H., Hegetschweiler, K., Gajda, T. (2003) Phosphodiester cleavage of ribonucleoside monophosphates and polyribonucleotides by homo- and heterodinuclear metal complexes of a cyclohexane-based polyamino-polyol ligand. *Chem. Eur. J.*, **9**: 5404–5415.
- [13] Ren, R., Yang, P., Zheng, W., Hua, Z. (2000) A simple copper(II)-L-histidine system for efficient hydrolytic cleavage of DNA. *Inorg. Chem.*, **39**: 5454–5463.
- [14] Schnaith L. M. T., Hanson, R. S., Que, L., Jr. (1994) Double-stranded cleavage of pBR322 by a diiron complex via a „hydrolytic” mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**: 569–573.
- [15] Rossi, L. M., Neves, A., Hörner, R., Terenzi, H., Szpoganicz B., Sugai, J. (2002) Hydrolytic activity of a dinuclear copper(II,II) complex in phosphate diester and DNA cleavage. *Inorg. Chim. Acta*, **337**: 366–370.
- [16] Strobel, S. A., Dervan, P. B. (1990) Site-specific cleavage of a yeast chromosome by oligonucleotide-directed triple-helix formation. *Science*, **249**: 73–75.
- [17] Kumagai, I., Takahashi, T., Hamasaki, K., Ueno A., Mihara, H. (2001) HIV Rev peptides conjugated with peptide nucleic acids and their efficient binding to RRE RNA. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11**: 1169–1172.
- [18] Takahashi, T., Ueno A., Mihara, H. (2002) Nucleobase amino acids incorporated into the HIV-1 nucleocapsid protein increased the binding affinity and specificity for hairpin RNA. *ChemBioChem*, **3**: 543–549.
- [19] Haruki, H., Gyurcsik, B., Okuwaki, M., Nagata, K. (2003) Ternary complex formation between DNA-adenovirus core protein VII and TAF- β /SET, an acidic molecular chaperone. *FEBS Lett.*, **555**: 521–527.
- [20] Nagata, K., Guggenheimer, R. A., Hurwitz, J. (1983) Specific binding of a cellular DNA replication protein to the origin of replication of adenovirus DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**: 6177–6181.
- [21] Czajlik, A., Meskó, E., Penke, B., Perczel, A. (2002) Investigation of penetratin peptides. Part 1. The environment dependent conformational properties of penetratin and two of its derivatives. *J. Pept. Sci.*, **8**: 151–171.
- [22] Gyurcsik, B., Vosekalna, I., Larsen E. (1997) Copper(II) complexes of oligopeptides. An equilibrium and spectroscopic study on the copper(II) Lys-Leu-Ala-His-Phe-Gly system. *Acta Chem. Scand.*, **51**: 49–58.
- [23] Jancsó, A., Paksi, Z., Jakab, I. N., Gyurcsik, B., Rockenbauer A., Gajda T. (2005) Solution chemical properties and catecholase-like activity of the copper(II)-Ac-His-His-Gly-His-OH system, a relevant functional model for copper containing oxidases, *under publication*.
- [24] Rulisek, L., Havlas, Z. (2003) Theoretical studies of metal ion selectivity. 3. A theoretical design of the most specific combinations of functional groups representing amino acid side chains for the selected metal ions (Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, and Hg²⁺). *J. Phys. Chem. B.*, **107**: 2376–2385.
- [25] Collins, C. H., Yokobayashi, Y., Umeno, D., Arnold F. H. (2003) Engineering proteins that bind, move, make and break DNA. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **14**: 371–378.
- [26] Surovaia, A. N., Grokhovski, S. L., Brusov, R. V., Lysov Iu. P., Zhuze, A. L., Gurski, G. V. (1994) Design of *de novo* specific DNA-binding peptides, using the motif beta-chain-turn-beta-chain for recognizing a nucleotide sequence in DNA. *Molekuliarnaia Biologiya*, **28**: 1383–1399.
- [27] Harford, C., Sarkar, B. (1997) Amino terminal Cu(II)- and Ni(II)-binding (ATCUN) motif of proteins and peptides: metal binding, DNA cleavage, and other properties. *Acc. Chem. Res.*, **30**: 123–130.
- [28] Kovacic, R. T., Welch, J. T., Franklin, S. (2003) Sequence selective DNA cleavage by a chimeric metallopeptide. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**: 6656–6662.
- [29] Porteus, M. H., Baltimore, D. (2003) Chimeric nucleases stimulate gene targeting in human cells. *Science*, **300**: 764.
- [30] McTigue, M. A., Williams, D. R., Tainer, J. A. (1995) Crystal structures of a schistosomal drug and vaccine target: Glutathione S-transferase from *Schistosoma japonica* and its complex with the leading antischistosomal drug Praziquantel. *J. Mol. Biol.*, **246**: 21–27.
- [31] Sui, M. J., Tsai, L. C., Hsia, K. C., Doudeva, L. G., Ku, W. Y., Han, G. W., Yuan, H. S. (2002) Metal ions and phosphate binding in the H-N-H motif: Crystal structures of the nuclease domain of ColE7/Im7 in complex with a phosphate ion and different divalent metal ions. *Protein Sci.*, **11**: 2947–2957.
- [32] Shiver, J. W., Fu, T.-M., Chen, L., Casimiro, D. R., Davies, M.-E., Evans, R. K., Zhang, Z.-Q., Simon, A. J., Trigona, W. L., Dubey, Sh. L., Huang, L., Harris, V. A., Long, R. S., Liang, X., Handt, L., Schleif, W. A., Zhu, L., Freed, D. C., Persaud, N. V., Guan, L., Punt, K. S., Tang, A., Chen, M., Wilson, K. A., Collins, K. B., Heidecker, G. J., Fernandez, V. R., Perry, H. C., Joyce, J. G., Grimm, K. M., Cook, J. C., Keller, P. M., Kresock, D. S., Mach, H., Troutman, R. D., Isopi, L. A., Williams, D. M., Xu, Zh., Bohannon, K. E., Volkin, D. B., Montefiori, D. C., Miura, A., Krivulka, G. R., Lifton, M. A., Kuroda, M. J., Schmitz, J. E., Letvin, N. L., Caulfield, M. J., Bett, A. J., Youil, R., Kaslow, D. C., Emini, E. A. (2002) Replication-incompetent adenoviral vaccine vector elicits effective antiimmunodeficiency virus immunity. *Nature*, **415**: 331–335.

A gyógyszerbiokémia jelene és jövője

Az MBKE Gyógyszerbiokémiai Szakosztály XX. Munkaértekezlete

A Magyar Biokémiai Egyesület Gyógyszerbiokémiai Szakosztályának címben jelzett munkaértekezlete húszéves sorozat aktuális rendezvényeként, ám a szokásosnál ünnepélyesebb formában zajlott le Balatonőszödön, 2005. május 23–25-én. A munkaértekezlet három napjában azok az előadások domináltak, amelyekben különböző irányítói, illetve kutatói pozícióban lévő kutatósszervezők és a gyógyszerkutatás egy-egy aspektusával elmélyülten foglalkozó tudósok és fejlesztők visszatekintésre épülő szakmai jövőképüket kívánták megrajzolni.

A munkaértekezlet 118 regisztrált résztvevője jelentős részben a legnagyobb magyarországi gyógyszergyárak (Chinoin Rt., EGIS Rt., IVAX GYKI Kft., Richter Gedeon Rt.) munkatársai közül került ki. Ugyanakkor az előadók között a ComGenex Inc., az MTA SzBK, az MTA KOKI, az MTA KKKI és a Debreceni Egyetem Egészségtudományok Centrum vezetői és vezető munkatársai is szerepeltek. Az első napi ülészak előadói Boda Miklós, az NKTH elnöke, Buzás László, a MAGYOSZ igazgatója és Frederic Ollier, a Chinoin Rt. vezérigazgatója voltak, akik valamennyien magas szinten foglalkoznak a gyógyszerkutatással és általában a kutatásfejlesztéssel.

A Gyógyszerbiokémiai Szakosztály munkaértekezleteire mindig is jellemző volt, hogy különböző szempontok szerint az elérhető legkiválóbb előadók segítségével világították meg a gyógyszerbiokémia, mint a nagyon tágran értelmezett tudományterület egyes lényeges, aktuális kérdéseit. Valószínűleg a szervezésnek ez a jellegzetessége kölcsönzött egyedi arculatot és magas szakmai színvonalat a rendezvénysorozatnak, ami az évről évre megnyilvánuló nagy érdeklődésnek és a résztvevők gyakori visszatérésének mélyebben fekvő oka lehet. Emellett bizonyosan nem elhanyagolható a gyönyörű és rendkívül kellemes környezet kötetlen beszélgetéseket stimuláló hatása sem. Olyan találkozások jöhettek ott létre alapkutatók, alkalmazott kutatók, klinikusok és tudománysszervezők között, amilyenekre másutt, más rendezvényeken alig-alig

volt esély. A rendezvények pozitív visszhangját Friedrich Péter akadémikus 2005. május 18-án keltezett levelének alábbi mondata is példázza: „Az MBKE keretében dolgozó szakosztályok közül talán a legegzenletesebb, magas szakmai szinten működő éppen a gyógyszerbiokémia volt.”

A gyógyszerkutatás és -fejlesztés aktuális problémái közül az egyik legfontosabb a hatóanyagok farmakokinetikai, metabolikus és toxikológiai (ADMET) tulajdonságainak optimalizálása, oly módon, hogy a molekuláris célpontra kifejtett hatás és a hatóanyag szelektivitása is kellő szinten maradjon. Az ADMET sajátságok nem megfelelő volta okozza mind a mai napig a gyógyszerjelölt molekulák fejlesztési kudarcának, fejlesztésből történő kiesésüknek a legnagyobb részét.

A fejlesztés korai szakaszában viszonylag kis anyagi és időbeli ráfordításokkal, *in vitro* modellrendszerekben, sőt manapság már *in silico* technikák alkalmazásával is törekszünk arra, hogy a gyógyszerhatóanyag várható sorsát megjósoljuk az *in vivo* állatmodellekben és majdan a betegekben is. Ezekkel a kérdésekkel a Vereczkey László által szervezett kétórás szekció foglalkozott, de számos más előadásban is érintették előadóink ezt a problémakört. Blaskó Gábor, Arányi Péter, Szombathelyi Zsolt, Darvas Ferenc és Simay Antal az általuk vezetett, egyenként is jelentős kutatói létszámot foglalkoztató, kizárólag gyógyszerkutatással és -fejlesztéssel foglalkozó szervezetek, gazdasági egységek közelmúltbeli eredményeiről és jövőbeni várakozásairól számoltak be.

Az előadások után örömmel állapították meg a résztvevők, hogy a magyarországi gyógyszerkutatás az 1990-ben bekövetkezett rendszerváltozás óta rendkívüli szakmai fejlődésen ment keresztül, a fokozódó verseny és a hátrányosan változó gazdasági szabályozók ellenére. Vezetőik eltökéltek abban, hogy továbbra is a nemzetközi trendeknek megfelelő fejlődési pályán tartják az irányításuk alatt álló kutatóegységeket, abban a reményben, hogy minél több hatékony gyógyszerjelölt kiválasztásában és fejlesztésében vehetnek részt.

A szakosztályülést a BioScience Kft. gyógyszerkutatásért alapított díjának átadása zárta. Az idén első ízben kiadott díjat Wollemann Mária, az SzBK Bio-

kémiai Intézetének volt igazgatónöje, szakosztályunk üléseinek rendszeres előadója nyerte el. Ezután ötéves mandátumának leteltével a szakosztály elnöksége nevében lemondott Arányi Péter, és javaslatára a szakosztály következő elnökének Keserű György Miklóst, az MTA doktorát, a Richter

Gedeon Rt. osztályvezetőjét választották meg egyhangúlag a jelenlévők. Sok sikert kívánunk a szakosztály jövőbeli működéséhez.

A leköszönő elnökség nevében

Arányi Péter

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 volt elnöke, Dr. Szajáni Béla, az MBKE főtítkárhelyettese, Dr. Szentirmai Attila, az MBKE Biotechnológiai Szakosztályának volt elnöke) ez évben hét egyetemen adott ki Nívódíjat.

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

Serester Orsolya Katalin (Debreceni Egyetem, TTK, Mikrobiológia és Biotechnológia Tanszék, témavezető: dr. Karaffa Levente) *„Az Aspergillus nidulans tömlős gomba laktózanyagcseréjének vizsgálata”*

Zalán Andrea (Budapesti Igazságügyi Orvostudományi Intézet, ELTE, TTK, Genetikai Intézet, téma-

vezető: dr. Pamzsav Horolma, Dr. Orosz László) *„X-kromoszomális STR lókuszok vizsgálata a magyar populációban”*

Szalai Mária (BME, Mezőgazdasági Kémia Technológia Tanszék, témavezető: dr. Kupcsulik Bálint és dr. Sevelle Béla) *„Rekombináns Pichia pastoris-szal előállított humán albumin tisztítása”*

Molnár Stella (Szent István Egyetem, Mezőgazdasági és Környezettudományi Kar, Genetika és Növénynevelés Tanszék, témavezető: dr. Kiss Erzsébet, Veres Anikó, Halász Gábor) *„Szőlőfajták molekuláris elemzése”*

Barna Zsófia (Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Mikrobiológia és Biotechnológia Tanszék, témavezető: Dr. Maráz Anna, dr. Pomázi Andrea) *„Különböző évjáratú aszúborokról izolált élesztők identifikálása és tipizálása hagyományos és molekuláris módszerekkel”*

Sáfár Zsolt (Szegedi Tudományegyetem, Biotechnológiai Tanszék, témavezető: Dr. Kovács L. Kornél) *„A Hup hidrogenáz érésében részt vevő gének vizsgálata transzpozonos mutagenézissel Methylococcus capsulatus-ban”*

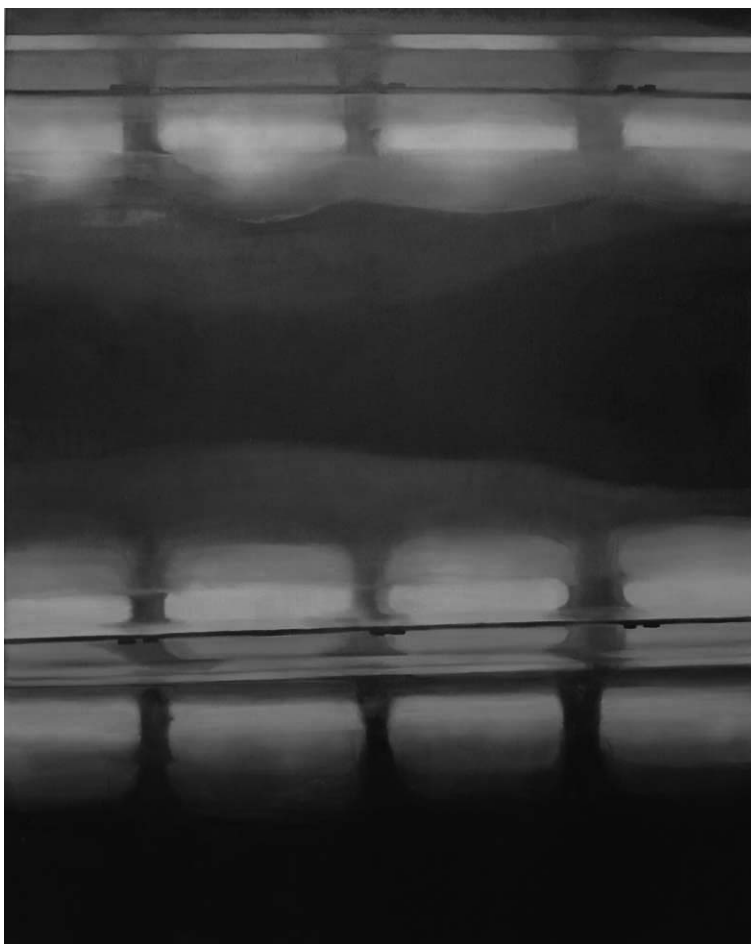
Kiss Katalin (Veszprémi Egyetem, Műszaki Kémiai Kutató Intézet, témavezető: Dr. Gubicza László, Dr. Kovács József) *„Szerves oldószerekben lejátszódó regioselektív enzimkatalitikus reakciók tanulmányozása”*

A jutalmazottaknak e helyen is gratulálunk és valamennyiüknek sikeres tudományos életutat kívánunk.

Budapest, 2005. szeptember

Nyeste László
az Operatív Bizottság elnöke

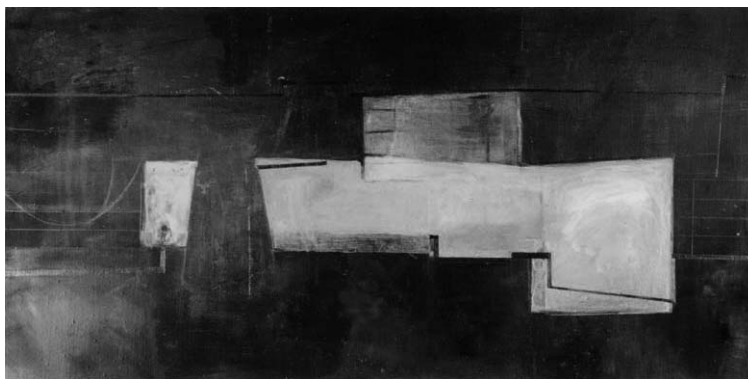
Soós Katalin 1978-ban született Budapesten. Tanulmányait az Ars Hungarica Szakközépiskola festő tagozatán, majd a Magyar Képzőművészeti Egyetem (MKE) festő szakán végezte, ahol Gaál József tanítványaként 2004-ben diplomázott. Emellett az ELTE Társadalomtudományi Karának kulturális antropológia szakán, illetve az MKE intermédia szakán folytatott további tanulmányokat. Jelenleg az MKE Doktori Iskolájának hallgatója. A művészeti szakmai közéletben is aktív szereplő, 2000-től tagja a Fiala Képzőművészek Stúdiója Egyesületnek, emellett a KldpIX digitális képzőművészeti műhely (A38 Hajó) alapítója, vezetője. 1997 óta rendszeresen szerepel csoportos és egyéni kiállításokon, döntően Budapesten. Fontosabb díjai: az Open Film Fesztivál közönség- és OFFkár-díjai (2000), Erasmus-ösztöndíj (2002). Bár dolgozik fényképi eszközökkel (fotóprint) is, döntően hagyományos (olaj)technikával készült festményein hangsúlyos szerepet kapnak különféle – köznapi vagy szokatlan – tárgyak, különösen azoknak közegükkel való kapcsolata és kölcsönhatása szerinti megközelítésben. Képei ennek megfelelően, noha első ránézésre valóság-hűnek tetszenek, akár az absztraktig nyúló elvonatkoztatást tükrözik. Az ábrázolás valós, a



*Soós Katalin, Csomagmegőrző 2 (2004),
olaj, vászon*



*Soós Katalin, Cím nélkül (2003),
olaj, vászon*



*Soós Katalin, Cím nélkül (1999),
olaj, vászon*

közvetlen tartalom hétköznapi, a „kézzelfogható” valóságból merített, mégis a tárgyak az alkotó általi kiemelésben mintegy átfomálják a térrendszert. Amint Soós írja erről: „a képben aktuálisan kialakuló tér maga adja a szabályokat, s nem kívülről importáltak – a végeredmény ennek ellenére (még ha felismerhetetlennek is, de) valóságosnak tűnik. A külön-külön felismerhető tárgyak együttese, de néha az egymáshoz való viszonyuk is abszurdnak tűnik: nincs biztonság, nincs egyensúly, nincs orientáció. Az áramlások, egyenetlenségek, bizonytalanságok, tükröződések, az evidenciák hiánya jellemzik ezeket az ismeretlen konstrukciókat.”

Sigma-díj fiatal kutatóknak

Újabb öt kitüntetett a 2005-ös évben

Bensőséges keretek között adták át 2005. június 3-án az idei Sigma-díjakat öt fiatal kitüntetettnek. Az évente kiadott kitüntetést a Sigma-Aldrich Kft., a Sigma-Aldrich Nemzetközi Részvénytársaság magyarországi leányvállalata 1997-ben, alapításának ötödik évfordulója alkalmából hozta létre olyan 35 év alatti kutatók részére, akik elsőszerzős közleményeikben Sigma, Aldrich, Fluka, Supelco, Riedel-de Haën, RBI vagy Genosys termékekre hivatkoztak. Az I. helyezést megosztva kapták Jancsó Attila (Szegedi Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék) és Gáspár Attila (Debreceni Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék), a II. helyezést Jakab Annamária (MTA, Kémiai Kutatóközpont) és Czirják Gábor (Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet), a III. helyezést Mohammedné Ziegler Ildikó (Richter Gedeon Rt.) nyerték el.

A díjátadásra a Sigma-Aldrich Kft. központi irodájában került sor, s az eseményen a díjazottak mellett az iroda tizenegy munkatársa és több érdeklődő vett részt. Megnyitójában dr. Gráf Márta, a Sigma-Aldrich Kft. ügyvezető igazgatója szólt a díj történetéről, valamint arról, milyen elbírálási szempontokat vesznek figyelembe az odaítélés során. Mint elmondta, a pályázók szakmai felkészültségét, eredményeiknek jelentőségét a pályázati anyagban leadott nívós szakcikkek önmagukban biztosítják, hiszen ha e dolgozatokat vezető folyóiratok közlésre elfogadták, azt mutatja, hogy a munkát tudományosan már igényes szinten értékelték. Úgy érzi – tette hozzá –, hogy a díj rendszeres átadásával kicsit cégük is hozzájárul a tudomány sikereihez.

A Sigma-Aldrich Kft. kereskedelmi és marketing igazgatója, dr. Matus Ilona röviden bemutatta a számos kémiai/biokémiai céget képviselő vállalatcsoportot, s elmondta, hogy 2004-ben forgalmuk közel 1,4 milliárd USD érték volt, melyet mintegy 85 000 vegyület (200 ezer termék) eladásával értek el. E vegyületeknek több mint 40 százaléka a vállalatcsoport saját terméke, idetartoznak a 34 országban működő leányvállalataik által gyártott vegyületek is. Vásárlóik megoszlása: mintegy 40% gyógyszergyártók és biotechnológiai cégek, 30% egyetemek, állami intézmények és nonprofit



szervezetek, 20% vegyipari és más ipari vállalatok és 10% kórházak.

A továbbiakban rövid előadás formájában a kitüntetettek ismertették díjazott munkáikat. Mohammedné Ziegler Ildikó kutatómunkája két területre koncentrált a BME Fizikai Kémia Tanszékén, ahol részint kalixarénekkel (témavezető: Kubinyi Miklós), részint adszorpciós folyamatok mechanizmusának vizsgálatával (témavezető: Billes Ferenc) foglalkozott. A kalixarének olyan ciklikus oligomerek, amelyek megfelelő szubsztituensek jelenlétében képesek alkálifém- és alkáliföldfém-ionokat és/vagy alifás aminokat szelektíven megkülönböztetni egymástól. Munkájuk célja az volt, hogy különleges körülmények között (pl. agyfolyadékban) működtethető analitikai szenzorokban való alkalmazásra vagy biológiai folyamatok modellezésére alkalmas vegyületeket találjanak. Később egy svéd intézettől nyert ösztöndíj révén a fák gombásodás elleni védelmével kezdett foglalkozni: természetes eredetű, gombaellenes vegyületeket adszorbeáltatott famin-tákon, és többféle mérési technikával tanulmányozta az adszorpció hatékonyságát befolyásoló paramétereket, valamint a folyamat mechanizmusát.

Czirják Gábor a molekuláris és celluláris élettan és elektrofiziológia területén végzett, a két pórusdoménal rendelkező (2P) háttér (csurgó) káliumcsatornák élettani szerepének feltárására irányuló, ezen belül elsősorban a TASK (*twik-related acid-sensitive K⁺ channel*, TASK-1, TASK-3) és a TRESK (*trek-related spinal cord K⁺ channel*) alcsaládok képviselőivel foglalkozó kutatásairól számolt be. Vizsgálataik – melyeket főként heterológ expressziós rendszerekben, az afrikai karmosbéka (*Xenopus laevis*) petesejtjeiben és COS-7 emlősejtjeiben kifejezett csatornákon végeztek – jelentős eredményekre vezettek. Kimutatták, hogy a patkány-mellékvesekéreg aldosterontermelő zónájában a glomerulózasejtek erősen negatív membránpotenciáljáért döntően a TASK-3-, kisebb részben a TASK-1-csatorna felelős. A TASK-1- és TASK-3-csatorna aktivitását gátolja a kalciummobilizáló receptorok (például glomerulózasejtben az angiotenzinreceptor)

ingerlése. Ez a gátlás a foszfolipáz C enzim aktivációján keresztül jön létre. Elsőként vetették fel a foszfatidil-inozitol-4,5-biszfoszfát (PIP2) szerepét e folyamatban. Igazolták, hogy TASK-1/TASK-3 heterodimer csatornák is kialakulhatnak, nem csak az alegységek homodimerjei. (Azóta más kutatócsoportok e heterodimer csatornákat több natív sejtben is megtalálták.) Emellett sikeresen klónozták az egér és humán eredetű TRESK-csatornát (az utóbbit néhány hónappal egy japán munkacsoportot követően).

Jakab Annamária biológiailag értékes komponenseket tartalmazó, lehetséges egészségvédő „termékek” (például szőlőmag, szőlőmag-présmaradvány és növényolajok) analitikai, elsősorban tömegspektrometriás és kromatográfiás vizsgálataira irányuló munkáját ismertette. Ezen analitikai fejlesztésben kiemelt szerep jutott a biológiai anyagokban azonosított összetevők (például antioxidánsok, biofenolok, telítetlen zsírsavat tartalmazó trigliceridek) szerkezeti és mennyiségi meghatározásának, az adatok kemometriai módszerekkel történő kiértékelésének, valamint a tömegspektrometriás, kromatográfiás analitikai módszerfejlesztéseknek a klinikai kémia területén, lehetővé téve ezzel bizonyos betegségek gyorsabb felismerését.

Gáspár Attila szakterülete is a műszeres analitika, részint az atomspektrometria, részint a kapillaris elektroforézis (CE) technikák. Előadásában ismertette a CE technika klasszikus alkalmazási területeit és saját eredményeit a krómspeciációs vizsgálatok terén (a Cr(III) esszenciális, míg a Cr(VI) toxikus vegyületei azonosításában), a gyógyszeranalitikában és diagnosztikában, valamint környezetanalitikai vizsgálatokban (például cianobaktériumok által termelt toxinok meghatározására felszíni vizekben). Eljárást dolgozott ki kefalosporinok meghatározására CE módszerrel, s kutatásai kiterjedtek az analitikai munka klinikai alkalmazásainak kidolgozására. Emellett hasonló analitikai és klinikai feladatokkal foglalkozik a nitrít- és nitráttartalom emberi nyálban történő meghatározásával kapcsolatban. Rövid összefoglalásában nemcsak szakmai eredményeit ismertette, de egyben kitért a gyakorló kutató mindennapi nehézségeire is, a kutatómunka pénzügyi hátterével, illetve a fiatal kutatóknak a kutatóhelyükön való megmaradásával, a státuszeremtés lehetőségével és az egyetem/kutatóhelyek helyzetével kapcsolatos nem éppen derűlátó kilátásokra.

Jancsó Attila előadásából kitűnt: kutatási témái alapvetően a bioszervetlen kémia tárgyköréhez sorolhatók. Érdeklődési területe metalloproteinek fémkötőhelyeinek szerkezeti és funkcionális modellezése kis molekulatömegű ligandumok fémkomplexeivel, hidrolitikus hatású fémkomplexek tervezése és vizsgálata. Az elmúlt években és jelenleg is fémtartalmú foszfoészteráz enzimek aktív centrumának modellezésével foglalkozik, ez magában foglalja két fémion egyidejű megkötésére alkalmas szerves ligandumok tervezését és előállítását, azok fémkomplexeinek oldategyensúlyi és szerkezeti vizsgálatát, valamint a modellrendszerek foszfoészteráz-aktivitásának kinetikai mérések útján történő vizsgálatát. A foszfoészteráz enzimek a dinukleozid-difoszfát két kisebb részre hasadásának folyamatát katalizálják, s ezen enzim modellezése lehetőséget teremt mesterséges nukleázok előállítására, amennyiben antiszensz oligonukleotidok végére sikerül olyan molekularészeket beépíteni, amelyek a foszfátészterkötés hasítását katalizálják. E célból imidazol- és piridinszármazékok, illetve különböző ciklohexán-diol-triamin szubsztrátumokat vizsgáltak. Modellenzimeik között emellett a szénsav anhidráz is megtalálható.



A díjátadók, a Sigma-Aldrich Kft. vezetői, valamint a boldog díjazottak az átadási ünnepség után. Balról jobbra: Gráf Márta, Czirják Gábor, Gáspár Attila, Jakab Annamária, Jancsó Attila, Mohammedné Ziegler Ildikó és Matus Ilona.

Az egyes előadásokat pezsgő szakmai vita követte, melyek során esetenként olyan, izgalmas részletekről is szó esett, melyekről az előadó – talán az időkeretre való tekintettel – nem ejtett szót. A *Biokémia* részéről őszintén reméljük, hogy a kitüntetettek szakcikk formájában részletesebben beszámolnak eredményeikről folyóiratunk hasábjain.

Székács András



A Semmelweis Egyetem Orvosi Vegytani Intézetének Dajkafehérje Laboratóriuma

(<http://www.chaperone.sote.hu>)

felvételekre keres

2006 szeptemberétől

doktoranduszokat (PhD-hallgatókat)

Kutatási témák:

- a stresszválasz és az öregedés kapcsolata
- a 90 kDa-os stresszfehérje (Hsp90) mint tumor-terápiás célpont

A tanulmányok során rövidebb külföldi tartózkodás szükségessé válhat. A felvételnél előny: jártasság a molekuláris biológia és a sejtbiológia területén, valamint a tudományos elkötelezettség.

2006. januártól

laboratóriumi szakasszisztenst

Munkakör:

- sejtfenntartás, sejtes technikák, fehérje-és DNS-izolálás, klónozás
- kísérletes munka instrukciók alapján
- a laboratóriumi adminisztráció ellátása
- egyszerűbb titkári teendők

A felvételnél előny: felsőfokú szakképzettség, gyakorlati tapasztalat.

Jelentkezés írott önéletrajzzal (és publikációs listával) a témavezetőnél:

Dr. Sóti Csaba (E-mail: csaba@puskin.sote.hu)



SZKARABEUSZ

Szkarabeusz Környezetvédelmi és Kereskedelmi Kft.; Pécs, Nagy Imre u.148.
Vegyszerbolt, raktár: Pécs, Verseny u.17. Tel.: 72/532-828, Fax.: 72/532-829
skarab@axelero.hu • www.szkarabeusz.hu

SERVA
Electrophoresis

Fine Biochemicals

- Gyógyszerkönyvi minőségű anyagok: antibiotikumok, aminosavak,
- Antibiotikumok: Cerulenin, Geldanancin, Nigericin, Rapamycin, Trichostatin A, Vancomycin
- Elektronmikroszkópia: SPURR Embedding Kit
- Fehérjekémia: 50 különböző Proteáz inhibitor, inhibitor mixek
- Jelátvitel: 6 új Protein kináz

Electrophoresis

- SERVALYTE Blank PRECOTES
- NetFix technológia; PreNets gél
- SDS PreNets blotting kit
- dialízishez: DiaEx Midi Kit
- Protein Concentration Kit
- Festékek
- Fehérje: Standardok, Proteome Markers
- Nukleinsav elektroforézis, Native PreNets
- Submarine Electrophoresis
- Software: Digital Image Analysis System, Cell explorer

Life Sciences

- DNase, RNase mentes reagensek, vegyszerek
- Nukleotidok és keverékek
- Protoplaszt fúzió: Funculase

Collagenase

- Collagenase NB szövettani felhasználásra

Ion exchange media

- Serdolit, DOWEX, Servacel

Enzimek/koenzimek/inhibitorok

Panreac

Panreac Química S.A.

Finomvegyszerek, reagensek

- *Műszeres analízishez szükséges termékek*
HPLC oldószerek: GG, isokratikus, prep.
Ion-pár reagensek, oldószerek peszticid szermaradvány analízishez
Spektroszkópiás oldószerek (UV, IR)
GC standardok
- *Vízmentes, szárított oldószerek*
- *Deuterizált anyagok NMR analízishez*
- *Nyomelem-analízishez reagensek*
Analpur (szennyezőanyag csak ppb tart.)
Hiperpur (szenny.a. **kevesebb**, mint 1 ppb)
Hiperpurplus (szenny.a. **kevesebb**, mint 100 ppt)
Alacsony Hg-tartalmú reagensek
AAS standardok, ICP standardok
- Nagytisztaságú oldószerek: n-Hexán, Acetonitril, Aceton, Diklórmetán, Metilalkohol stb.
- Nagytisztaságú savak, reagensek: HCl, HNO₃

CULTIMED Mikrobiológiai termékek

CODEX: Gyógyszerkönyvi minőségű alapanyagok

ADITIO: Élelmiszer-ipari minőségű alapanyagok
(antioxidánsok, stabilizátorok, pH-szabályozók, ásványi sók stb.)