

BIOKÉMIA

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

Szerkesztőbizottság:

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

Felelős szerkesztő:

SZÉKÁCS ANDRÁS

XXV. ÉVF. 3. SZÁM

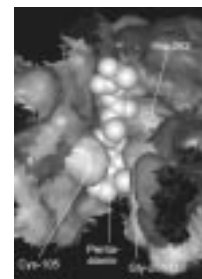
2001. SZEPTEMBER

A tartalomról:

- ◇ Gyógyszerkutatás molekuláris célpontok felhasználásával – *Arányi Péter*
- ◇ „Szent László Pénze” (*Nummulites*) kémiai analízise – *Nagy Tamás*
- ◇ Ismertető az EU 5. Kutatási, Technológiafejlesztési és Demonstrációs Keretprogramjának pályázati lehetőségeiről
- ◇ Beszámoló a 2. Kalpain Konferenciáról – *Friedrich Péter és Tompa Péter*
- ◇ Újra Sárospatakon – *Vértessy Beáta*
- ◇ Fial Biotechnológusok Nívódíja – *Nyeste László*
- ◇ Biológiai fegyverek árnyékában (könyvismertetés, Ken Alibek, Stephen Handelman: Biohalál) – *Pethő Ágnes*

Címlapkép:

Penta-Ala peptid az m-kalpain aktív centrumát kettéválasztó árokban. A kalpainra abszolút specifikus inhibitor lehet a II. domént kettéválasztó árokba kötődő peptid, mivel megakadályozhatja az aktív centrum kialakulását, és így az enzim aktiválódását. Az ábrán a megfelelő helyre illesztett penta-Ala peptid mutatja, hogy az inhibitor számára elegendő hely van az árokban. – Az ábrát Szilágyi András (MTA SZBK Enzimológiai Intézet) készítette (ld. a vonatkozó közleményt a 61–63. oldalakon).



Contents:

- ◇ Drug discovery through the use of molecular targets – *Péter Arányi*
- ◇ The chemical analysis of *Nummulites* – *Tamás Nagy*
- ◇ Information on application possibilities in the EU 5th Framework Programme
- ◇ Minutes of the 2nd Calpain Conference – *Péter Friedrich and Péter Tompa*
- ◇ At Sárospatak again – *Beáta Vértessy*
- ◇ Award for Young Biotechnologists – *László Nyeste*
- ◇ In the shadow of biological weapons (book review) – *Ágnes Pethő*



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

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

Gyógyszerkutatás molekuláris célpontok felhasználásával

The role of molecular targets in drug discovery

Arányi Péter

Chinoin Rt., 1045 Budapest, Tó u. 1–5.

Összefoglalás

A molekuláris biológia, az automatizálástechnika és a számítógépes adatkezelés fejlődése az eredeti gyógyszerhatóanyagok kiválasztásának forradalmian új megközelítést tette lehetővé. A cikk ennek elveit és kulcskérdéseit foglalja össze.

Arányi, P.

Chinoin Co. Ltd., H-1045 Budapest, Tó u. 1–5.
Hungary

Summary

Recent developments in molecular biology, automation and data base management set the scene for a revolutionary new approach to drug candidate selection. Principles and pivotal issues are summarised in this paper.

Bevezetés

Az egészségügy helyzete a világ különböző ország-csoportjaiban rendkívül eltérő, ugyanakkor – érdekes módon – az igény új, hatékony gyógyszerek iránt a fejlett és a fejlődő országokban egyaránt igen nagy, sőt növekvő. A fejlett országokra jellemző egyre magasabb várható élettartam az időskori betegségek kezelését hozta előtérbe, míg a fejlődő országok a nyomásgyakorlás különféle eszközeit veszik igénybe, hogy – olcsón – hozzájussanak a fertőző betegségek, elsősorban az AIDS ellen kifejlesztett hatékony gyógyszerekhez [1–3].

Az innovatív gyógyszergyártókra részvényesek felől nehezedik a forgalom növekedése irányába ható nyomás, míg az egészségbiztosítási rendszerek költségeiket kívánják minimalizálni. Mindezen hatásokra az eredeti gyógyszerkutatás hatékonyságának, az évente piacra kerülő új termékek számának és innovatív jellegüknek a fokozásával kívánnak válaszolni a gyártók. A következőkben az eredeti gyógyszerkutatás szemléletváltozásának és technikai forradalmának bemutatásán keresztül fogom illusztrálni, hogy a fenti célok miképpen érhetők el.

Szűrővizsgálati rendszerek

A nyolcvanas években a legnagyobb gyárak a korábban kizárólagos *in vivo* szűrővizsgálati rendszerekről fokozatosan tértek át az *in vitro* rendszerekre. Ez a mérési térfogatnak, következésképpen a vizsgálati anyag mennyiségének, továbbá a kísér-

leti állatfelhasználásnak a csökkenéséhez vezetett, és megteremtette az automatizálás lehetőségét is. Természetesen ugyanakkor pontosan kellett definiálni a tesztreakciót. Ez általában enzimreakció vagy receptorkötési teszt volt. Utóbbi triciált vagy ¹²⁵I-jelzett ligandumok, előbbi fluorogén szubsztrátok alkalmazásával járt az érzékenység növelése érdekében. A tesztben alkalmazott tisztított, általában állati eredetű fehérjemolekulát nevezzük a kutatási projekt molekuláris célpontjának (*molecular target*).

A mai gyakorlatban használt molekuláris célpont fogalom némi pontosításon ment keresztül. Hivatalos definíció nem lévén, jelen közleményben molekuláris célponton azt az endogén vagy exogén (pl. virális eredetű) makromolekulát értem, amelynek működését befolyásolni akarjuk egy betegség gyógyítása, megelőzése vagy a tünetek enyhítése céljából.

Az originális gyógyszerkutatási projektek első lépésében ma általában a kiválasztott molekuláris célpont jellegzetes aktivitását határozzuk meg tesztanyagok jelenlétében. A tesztanyagok a gyógyszergyár vegyülettárából (*chemical library*) vagy természetes anyag kollekcijából kerülnek ki, esetleg kombinatorikus kémiai módszerekkel állítjuk azokat elő [4]. Ezek az első szűrővizsgálati lépések többnyire nem kívánnak előzetes szerkezeti ismereteket sem a célmolekula, sem a mérendő vegyületek tekintetében. Céljuk ugyanis éppen az olyan originális és hatásos struktúrák felderítése, melyek szintetikus módosításával újszerű, szabadalmaz-

tatható vegyületeket lehet előállítani. A szűrővizsgálatba több tízezer, esetleg több százezer vegyület is érdemes bevonni, a vizsgált szerkezetek minél nagyobb diverzitására törekedve. A kereskedelmi forgalomban kapható automata műszerek napi néhány száz – néhány ezer vegyület vizsgálatát, az ugyancsak széles körben használt robotok napi néhány ezer – néhány tízezer vegyület vizsgálatát is lehetővé teszik. Egy-egy tesztanyagból ugyanakkor 1 µg-nál is kevesebbre van szükség (általában oldat formában tároljuk azokat). Az így működő rendszer elnevezése nagy kapacitású szűrővizsgálati rendszer (*high throughput screening system*, HTS) [5]. A mérések során aktívnak bizonyult anyagokat találatnak (*hit*) hívjuk. Ezek szerkezetéből kiindulva kapjuk a vezérmolekulákat (*lead*), majd további optimalizálás után a fejlesztési jelölteket. Az optimalizálás folyamatában a szintetikus vegyészti kémiai modellezés, és ha a célpont háromdimenziós szerkezete is ismert, az ennek segítségével végzett racionális tervezés segíti a munkájában [6]. A fejlesztési jelölt kiválasztása a hatóanyag-kutatás célja. Ettől a ponttól kezdve válik a kiválasztott gyógyszerjelölt a fejlesztés tárgyává.

Validált célpontok

A majdani gyógyszer sikerességének talán legfontosabb összetevője a molekuláris célpont megfelelő kiválasztása. A humán genom első vázlatos leírása [7, 8] megsokszorozta a gyógyszeripari kutatás számára hozzáférhető, eddig ki nem használt molekuláris célpontok számát [9]. Mindazonáltal már jóval a humán genom projekt befejezése előtt nagyszámú fehérjét azonosítottak, melyeknek a funkciója nem volt teljesen feltárva, esetleg egyáltalán nem volt ismert. Ilyenek például az ún. árva receptorok, valamint ismert fehérjék altípusai, esetleg *splíce* variánsai. A közülük kiválasztott új molekuláris

célpontokat validálni kell. A *target* validálása azt a folyamatot jelenti, melynek során bebizonyítjuk, hogy a kiválasztott célpont molekula aktivitásának módosításával a gyógyítani kívánt betegség lefolyását kedvezően befolyásolhatjuk. J. Drews, a Hoffmann LaRoche volt kutatási igazgatója szerint [10] a célpont validálása ma az eredeti gyógyszerkutatás szűk keresztmetszete. Természetesen ezt a validálást biztonsággal csak klinikai vizsgálatok során végezhetjük el. Valószínűsítenünk azonban a célpont molekula szöveti eloszlása alapján (pl. egészséges és beteg sejtekben, a betegség akut és krónikus fázisaiban, a meglévő kezelés hatására bekövetkező javulás során), továbbá a célpont molekula aktivitásának következtében előálló változások (pl. szubsztrátszint változása, génexpresszió-változás) vagy a jelátvitel következményeinek értelmezésével, valamint farmakológiai modellek, továbbá epidemiológiai analízis segítségével lehet [11, 12].

A validált *target* humán változatát célszerű a szűrővizsgálatokban használni. A kérdéses fehérjét általában klónozott formában, többnyire emlős- vagy élesztősejtekben expresszálva, legtöbbször valamilyen riporter rendszerhez kapcsolva használjuk, hogy a szűrővizsgálat technikailag minél könnyebben kivitelezhető legyen [13]. Tapasztalati tény, hogy a különböző fajokban expresszálódó analóg fehérjék (ortológok) közötti, esetenként viszonylag igen magas homológia ellenére, az igazán hatékony fejlesztési jelölt molekulák erős preferenciát mutatnak az iránt a célmolekula iránt, amelyre nézve azokat optimalizálták. Ez a jelenség nehezíti a farmakológiai modellek kidolgozását, de közelebb visz a kutatás céljához, a humán gyógyszer hatóanyagának előállításához. A közeljövőben – többek között a fenti problémák leküzdése érdekében – várhatóan meg fog növekedni a *knock out*, *knock in* és transzgenikus állatok farmakológiai modellként történő felhasználása.

Polimorfizmus

Az emberi faj genetikailag erősen polimorf. Becslések szerint a humán genomban mintegy 3×10^6 SNP (*single nucleotide polymorphism*, nukleotid szintű variáció) található [14, 15]. Ennek legnagyobb része a nem kódoló régiókban helyezkedik el, ezért egyetlen expresszált fehérje működését sem befolyásolja. Géntérképezésre és a betegségekre hajlamosító génrészeket azonosítására viszont kiválóan

Arányi Péter a biológiai tudomány doktora. A Chinoín Rt. kutatási és fejlesztési igazgatója 1992 óta. Az MBKE Gyógyszerbiokémiai Szakosztály elnöke 1992-től. Szűkebb szakterületei: a receptorok szerkezete és



működése, az eredeti gyógyszerkutatás. Fontosabb tanulmányutak: 1979–1980 *Sidney Farber Cancer Institute*, Prof. A.B. Pardee laboratóriuma; 1984–1985 Párizs, *INSERM*, Prof. E.-E. Baulieu laboratóriuma.

alkalmas. Az a jelenség is közismert, hogy bizonyos betegségekben az egyébként hatékony gyógyszerekre a betegek egy csoportja nem vagy alig reagál (pl. glukokortikoid rezisztens asztma vagy a triciklikus antidepresszánsokkal szembeni rezisztencia). Ennek alapján a betegek osztályokba sorolhatók. A következő évtizedek nagy kihívása, hogy a molekuláris genetika módszereivel osztályozott betegcsoportok számára az optimális terápiát jelentő gyógyszert fejlesszék ki a gyógyszergyártók [15, 16]. Ez valószínűleg betegcsoportonként eltérő molekuláris célpont kiválasztását és arra optimálisan ható gyógyszer hatóanyag-előállítását igényli. Jelentősége a társadalom számára ma még szinte felmérhetetlen.

A fentiekben vázlatosan ismertetett technológiai fejlődés a funkcionális genomika talán legjelentősebb gyakorlati felhasználását teszi lehetővé az eredeti gyógyszerkutatásban [17].

Irodalomjegyzék

- [1] (2001) WHO calls for more health resources for poor. *Scrip*, **2611**: 19.
- [2] (2001) Massive global efforts to eradicate diseases of poverty. *Scrip*, **2617**: 34.
- [3] (2001) GlaxoSmithKline broadens access to AIDS drugs. *Scrip*, **2621**: 20.
- [4] Petsko, G.A. (1996) For medicinal purposes. *Nature*, **384** (Supp. 7): 7–9.
- [5] Broach, J.R., Thorne, J. (1996) High-throughput screening for drug discovery. *Nature*, **384** (Supp. 7): 14–16.
- [6] Blundell, T.L. (1996) Structure-based drug design. *Nature*, **384** (Supp. 7): 23–26.
- [7] (2001) International Human Genome Sequencing Consortium: Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, **409**: 860–921.
- [8] Venter, J.C., Adams, M. D., Myers, E. W., Li, P. W., Mural, R. J., Sutton, G. G., Smith, H. O., Yandell, M., Evans, C. A., Holt, R. A. et al. (274 Authors) (2001) The sequence of the human genome. *Science*, **291**: 1304–1351.
- [9] Sanseau, P. (2001) Impact of human genome sequencing for in silico target discovery. *DDT*, **6**: 316–322.
- [10] Lawrence, R.N. (2001) Jürgen Drews discusses the future of the industry. *DDT*, **6**: 338–341.
- [11] Peltonen, L., Mckusick, V.A. (2001) Dissecting human disease in the postgenomic era. *Science*, **291**: 1224–1229.
- [12] Marton, M. J., DeRisi, J.L., Bennett, H. A., Iyer, V. R., Meyer, M. R., Roberts, C. J., Stoughton, R., Burchard, J., Slade, D., Dai, H., Bassett, D. E., Jr., Hartwell, L. H., Brown, P. O., Friend, S. H. (1998) Drug target validation and identification of secondary drug target effects using DNA microarrays. *Nature Med.*, **4**: 1293–1301.
- [13] Price, L.A., Kajkowski, E.M., Hadcock, J. R., Orenberger, B.A., Pausch, M.H. (1995) *Molec. Cell. Biol.*, **15**: 6188–6195.
- [14] Chakravarti, A. (2001) Single nucleotide polymorphisms to a future of genetic medicine. *Nature*, **409**: 822–823.
- [15] Jazwinska, E.C. (2001) Exploiting human genetic variation in drug discovery and development. *DDT*, **6**: 198–205.
- [16] Norton, R.N. (2001) Clinical pharmacogenomics: applications in pharmaceutical R&D. *DDT*, **6**: 180–185.
- [17] Dyer, M.R., Cohen, D., Hersling, P.L. (1999) Functional Genomics: from genes to new therapies. *DDT*, **4**: 109–114.



A veszprémi székhelyű

Biorex Kutató–Fejlesztő Rt.

(<http://www.biorex.hu>)



felvételre keres fiatal munkatársakat az alábbi munkakörökben:

- farmakológus, farmakológiai gyakorlattal
- molekuláris biológiai és/vagy biokémiai, sejtbiológiai gyakorlattal rendelkező biológus, orvos vagy vegyész kutató.

Az álláskeresőnek jó angoltudással kell rendelkeznie.

Jelentkezés:

- farmakológusok esetén Jednákovits Andreánál
(andrea.jednakovits@rex.biorex.hu, 88-545-230)
- biológus, orvos vagy vegyész kutatók esetén Péntes Zoltánnál
(zoltan.pentes@rex.biorex.hu, 88-545-253)

Bérezés és egyéb juttatások megállapodás szerint.

„Szent László Pénze” (*Nummulites*) kémiai analízise

The chemical analysis of *Nummulites*

Nagy Tamás

Pécsi Tudományegyetem, Orvostudományi Kar,
Klinikai Kémiai Intézet, 7624 Pécs, Ifjúság u. 13.

Összefoglalás

Szent László pénzének hívja a népnyelv azt az ősi kővéletet, amely az eocénkori rétegekben (kb. 50–60 millió évvel ezelőtt) található nagy mennyiségben. Ezek a hazánkban is fellelhető, lapos, kerek, pénzérmére emlékeztető fossziliák egy különös egysejtű élőlény maradványai, mely képes volt igen bonyolult felépítésű sejtvázat növeszteni maga köré. Kutatásaink célja az volt, hogy felderítsük egy Erdélyből származó nummulina faj kémiai összetételét és esetleges megőrzött organikus fehérjetartalmát. Infravörös spektroszkópiás vizsgálataink kalcium-karbonátot jelöltek meg fő összetevőként, azonban utaltak kis mennyiségű szerves anyag jelenlétére is. Analitikai méréseink (atomabszorpció spektrofotometria, lángfotometria, röntgendiffrakció, röntgenfluoreszcencia) a szerves komponensek irányában pontosították az összetevők mennyiségi arányát, mely megfelelt a rendelkezésünkre álló korábbi irodalmi adatoknak. Érdeklődésünk fókuszába ezt követően a szerves összetevők kerültek. Tisztítási, mosási eljárások után EDTA segítségével végzett feltárást választottunk a potenciális konzervatív fehérjetartalom megőrzése, kémelése érdekében. Az így nyert oldható frakciók proteintartalmának koncentrációját dialízissel és azt követő liofilizálással végeztük, a liofilizátumot elektroforézisnek és érzékeny detektálási eljárásnak vetettük alá. Vizsgálataink ehelyütt ismertett eredményei a szerves összetevők pontosabb megismerését vetítik előre.

Bevezetés

A nummulinák (1. ábra) fosszilis örökségünk jelentős részét képviselik, és elérhetőségük, viszonylag nagy számuk, jó megtartottságuk alapján kitűnő lehetőséget nyújtanak a fosszilizáció folyamatának vizsgálatára. A kővélet később ismertető szer-

Nagy, T.

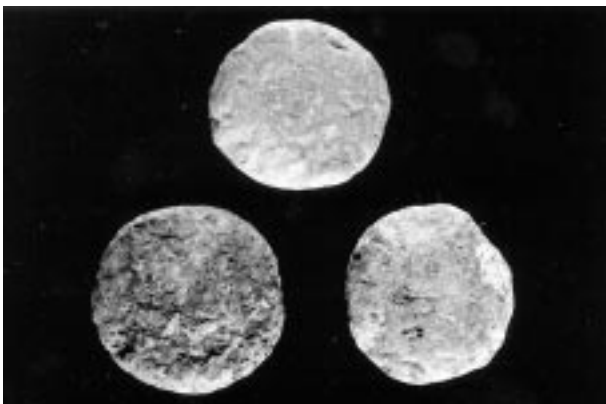
Pécs University, Faculty of Medicine, Institute of Clinical Chemistry, H-7624 Pécs, Ifjúság u. 13, Hungary

Summary

In the vernacular, “Saint Ladislav's Coin” is the fossil found in large quantities in layers from the eocene era (50–60 million years ago). These flat, round fossils, reminiscent of coins, and also found in Hungary, are the mortal remains of a peculiar single-cell creature that was able to grow a “skeleton” around itself with a considerably complex structure. The aim of our research was to find out the chemical composition and the possibly preserved organic protein content of a *Nummulina* species from Transsylvania. Our investigations with infrared spectroscopy pointed out calcium carbonate as the main component, but also referred to the presence of an organic substance in small quantities. Analytical measurements (atomic absorption spectrophotometry, flame-photometry, X-ray diffraction, X-ray fluorescence) on the anorganic components specified their quantitative rates that corresponded to former literary data. The focus of our interest was the issue of the presence of organic components. After rigorous cleaning and washing, an extraction method with EDTA was chosen in order to preserve and favor the potential conservative protein content. The protein content in the soluble fractions was concentrated by dialysis and lyophilization. Samples were submitted to electrophoresis and a sensitive method of identification. Results provide more accurate knowledge of the organic components.

kezetére alapozva felvetettük annak lehetőségét, hogy esetleg kis mennyiségű konzerválódott szerves anyagot is találhatunk bennük. Mivel a szerves összetétel meghatározása egyszerűbbnek tűnt, ezért érdeklődésünket főképp a szerves – tehát protein, illetve nukleinsav természetű – összetevők kimutatásának, izolálásának irányába fordítottuk.

Az alábbiakban röviden ismertetjük az általunk ismert szakirodalom eddigi eredményeit, illetőleg a nummulinák legfontosabb jellegzetességeit.



1. ábra Szent László érmék (Fenyves, Erdély)

Fossilis DNS. A fossilis DNS kutatása érdekes karriert futott be a kilencvenes évek során. Az évtized első felében egymást érték azok a cikkek, melyekben a legősibb izolált és amplifikált DNS címéért versengve újabb és újabb rekordokat állítottak fel [1–3]. Az első közlemény 1989-ből származik, 4000–13000 éves, állati eredetű szövetekből (köztük két, ma már kihalt faj szövetéből) nyert ki DNS-t, de 140 bázispárnál hosszabb szakaszt nem sikerült PCR-rel amplifikálni. Az eredmények felvetették annak a lehetőségét, hogy a múlt fossziliáiból kinyert DNS segítségével hívható a filogenetikai kutatásban, az evolúció jobb megértésében [4].

Woodward és munkatársai arról számoltak be, hogy egy dinoszaurusz 80 millió éves fennmaradt csontjából a mitokondriális citokrom-b gén egy részét sikerült amplifikálniuk [5]. Ezen kísérlet igazát sokan vitatták, a kimutatott szekvenciát humán vagy más eredetű szennyezésnek tartották, és hiányolták a kísérlet független laborban való megis-

métlését, ezért a reprodukálhatóság növelésére, a szennyezés és a hamis pozitív eredmények lehetőség szerinti csökkentésére törekedve szigorú kritériumokból álló módszertant dolgoztak ki [6]. Austin és munkatársai részletes, szigorú szennyeződési kritériumoknak eleget tevő körülmények mellett bizonyították, hogy borostyánkőbe zárt fossziliákból nem lehet reprodukálható szekvenciát kinyerni [7]: közel 500 PCR végeztek el, de egyetlen specifikus, hitelt érdemlő terméket sem találtak. Krings és munkatársai azonban 1997-es közleményükben arról számoltak be, hogy neandervölgyi ember csontjából sikeresen mutattak ki mitokondriális DNS-t [8], melynek szekvenciáját elemezve és összehasonlítva azt találták, hogy kb. 600 ezer éve vált külön a *Homo sapienstől*, és adataik alátámasztották azt az elméletet, miszerint a mai ember „mitokondriális őse” kb. 150 ezer éve élt Afrikában.

A kezdeti lelkesedés, ha nem is tűnt el teljesen, de jelentősen csökkentették a megkívánt szigorú feltételek miatti kudarcok, a hamis, nem reprodukálható eredmények. Az előtérbe emiatt a „fiatalabb”, maximum néhány 100 ezer éves fossziliák kerültek [9–12].

Fossilis proteinek. A fossilis fehérjék szakirodalma jóval szerényebb a DNS-énél: ennek valószínűleg a csekélyebb érdeklődés (nincs annyira a média reflektorfényében sem) és a nehezekebb, kevésbé kidolgozott módszertan lehet az oka. (A nukleinsav bázissorrendjének meghatározása ma már rutinművelet, a PCR nyújtotta amplifikációs előnyöknek köszönhetően, míg fehérjék szekvenciájának meghatározása jóval bonyolultabb.) Ugyanakkor az ősmaradványokban – ha feltételezzük, hogy valamely szerencsés körülmény megvédte az idő és a külső behatásoktól – mennyiségileg több fehérje lehet, mint DNS, hiszen kiinduláskor, azaz a sejt halálakor a sejt szárazanyag-tartalmának nagy része protein, és csak elenyésző része volt nukleinsav.

Nagy Tamás orvosi diplomáját 2000-ben szerezte a Pécsi Orvostudományi Egyetemen. Másodéves tanulmányai során kapcsolódott be az egyetem Klinikai Kémiai Intézetének munkájába, tudományos diákköri tevékenységét majd PhD-kutatómunkáját Kellermayer Miklós témavezetésével végezte a Szent László érmék kémiai analízise tematikájában. A



témakörben 1997-ben a POTE TDK Konferenciáján, majd az Országos TDK Konferencián tartott előadást, s e cikke is ezen négy és fél éves TDK-munkája eredményeit tárgyalja. Jelenlegi kutatási témája is szorosan kapcsolódik a sejtvázhoz, de jelentősen eltérő aspektusban: az mRNS-poliriboszómák asszociációját vizsgálja a citoskeletonban különböző összetételű nem ionos detergenssel kezelt sejt kultúrákon, polarizációs mikroszkópia bevonásával. E munka célja, hogy feltárja a sejtek fehérjeszintézisének dinamizmusát, rendezettségét, valamint ennek kapcsolatát a citoskeletonnal.

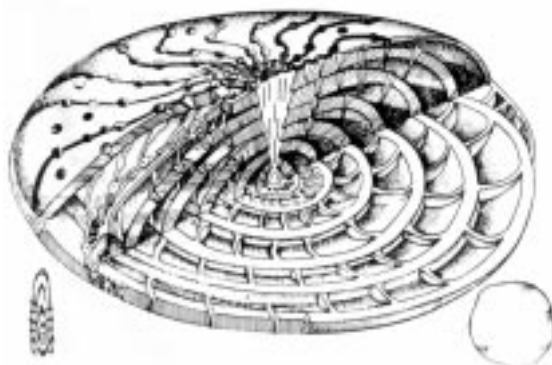
1954-ben publikálták először (Abelson), hogy fosszilis csontokban aminosavak jelenlétét fedezték fel, majd peptidkötések fennmaradását is igazolták [13]. Nem sokkal később antigén tulajdonsággal rendelkező fosszilis szerves anyag nyomaira bukkantak [14]. A kísérlet eredményeként megállapították, hogy a fosszilis és élő minták közt jelentős keresztreakciók tapasztalhatók. Egy későbbi tanulmány [15] igen érdekes proteinnel, az osteokalcinnal foglalkozik: ez 49 aminosav hosszúságú protein, amely gamma-karboxiglutaminsavat (Gla) tartalmaz, és erősen kötődik a csont hidroxipatit kristályához, ugyanis a Gla a Ca^{2+} -ionok iránt nagy affinitású. Az osteokalcin több napos, akár $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os hevítést is átvészel, anélkül, hogy akár antigén sajátosságai, akár Gla-tartalma változna. A kutatók 12000–30 millió éves korú csontokból vontak ki sikerrel osteokalcint. A feltárást EDTA-val végezték, és osteokalcint minden esetben találtak. 1991-ben már egy 150 millió éves dinoszauruszcsontból mutattak ki fehérjét guanidin-hidrokloridos extrakció és HPLC módszer segítségével [16]. A proteineket nem sikerült kollagénnel azonosítani.

Az osteokalcin kimutatásának kivételével azonban mind ez idáig nem sikerült specifikus proteineket találni többmillió éves ősi maradványokban. Albumint, illetve kollagént csak a – földtörténeti korokban számolva – viszonylag „friss” maradványokban találtak [17–19]. Mindazonáltal biztató, hogy számos tanulmány, kutatás igazolja, hogy biomolekulák hosszú évmilliókig is fennmaradhatnak, ily módon talán lehetőség nyílik arra, hogy betekinthessünk az evolúció molekuláris szinten történő változásaiba [20–21].

Nummulinák. A nummulina fajok a foraminiferák (likacsoshéjúak) rendjébe tartozó egysejtű élőlények. A foraminifera fajok állásaik segítségével mozognak és táplálkoznak, az állások ugyanis a váz nyílásain kinyomulnak és körülveszik a vázat. Ilyen értelemben belső vázuk van, ami a citoplazmát védi. A nummulinák ún. nagyforaminiferák, lencsényitől a tenyérnyi méretig (a *N. millicaput* faj például 16 cm, ami egyetlen sejt számára tekintélyes méret!). A kerek, lapos kövek valóban hasonlítanak a pénzérmékre, különösen a régi aranypénzekre, innen származik nevük: *Nummulites*, a „nummulus” ugyanis latinul „pénzecske” jelent. A nummulinák 50–60 millió éves eocénkori fossziliák: ugyan több földtörténeti koron keresztül jelen

voltak, virágkorukat az eocénban élték. A hazai nummulinafauna tanulmányozásával Hantken Miksa és Rozlozsnik Pál szerzett nemzetközi hírnevet.

A kerek, lapos váz keletkezését úgy képzelhetjük el, mintha egy U-betűt forgatnánk körbe a szárainak végpontjait összekötő tengely mentén, ezáltal a spirális és a hasonló lefutású lemezek közötti rés koncentrikus, réteges alakzatot vesz fel (2. ábra). A réseket, más néven az ún. spirális úrt a citoplazma töltötte ki. Ezen úrt is számos válaszfal osztja kamrákra, melyek kisebb csatornákon, pórusokon keresztül közlekednek egymással, illetve a külvilággal. Az igen nagy számú (6000) kamrák egyike, a kezdőkamra rendszerint a központban helyezkedett el, és ez tartalmazta a sejtmagot. A szerkezet az egysejtű élete során fokozatosan növekedett, sőt regenerációra, gyógyulásra is képes volt, ha valamilyen behatás miatt sérült. A váz fő alkotója a szerves mátrixra ráakódott kalcium-karbonát és magnézium-karbonát [22].



2. ábra A nummulinák vázának felépítése [23].

Irodalmi adatokat arra nézve nem találtunk, hogy vizsgálták volna fosszilis nummulinák vagy foraminiferák szervesanyag-tartalmát. Mivel azonban a foraminiferák eredete, rendszertanban elfoglalt helyzete máig sem teljesen tisztázott, történetek molekuláris biológiai kutatások az irányban, hogy ezt kiderítsék [24–28]. Ezen kutatások azonban csak az élő foraminifera fajok és más rokon fajok közti genetikai hasonlóságot, az evolúciós ráta sebességét vizsgálták. Az első közölt foraminifera DNS-szekvencia 1994-ben jelent meg [29]. Vizsgálták, szintén élő foraminiferán a citoszkeleton rendszert, ezen belül a motilitást és a mikrotubuláris rendszert [30]. Mindazonáltal elmondhatjuk, hogy a nummulinák tanulmányozása, róluk szóló ismereteink bővítése még korántsem fejeződött be.

Anyag és Módszer

A vizsgálatokhoz felhasznált anyag. Lelőhely: Fenyves (Erdély, Tordai hasadék). A fossziliák mérete változó volt, átmérőjük 10–38 mm, vastagságuk 3–16 mm között változott, súlyuk átlag 6–10 g között volt. Feldolgozásuk általában több példány összetörésével képzett homogén porított mintából történt.

Szervetlenanyag-összetétel. Az emissziós lángfotometriás és atomabszorpciós spektrofotometriás mérések feleslegben adott EDTA-tartalmú feltárási oldatban feloldott mintából történtek. A kálium-, nátrium- és kalciumtartalmat Eppendorf EFOX lángfotométer segítségével mértük, míg a magnéziumtartalmat Varian AA-20 atomabszorpciós spektrofotométerrel határoztuk meg. A kövület vastartalmát kolorimetriás eljárással mértük ferrozinos módszerrel, fehérjementesítés nélküli oldatból. Az infravörös spektroszkópiás méréseket Carl Zeiss Jena IR-75 típusú készülékkel végeztük. A mérésre Ohmacht Róbert közreműködésével és segítségével POTE Orvosi Kémiai Intézetében került sor [31]. A röntgendiffrakciós méréseket a Szegedi Egyetem Ásványtan, Geokémia és Kőzettan Tanszékén Bertalan Ákos végezte el. Röntgenfluoreszcenciás mérések NZA 8500 típusú RFA-berendezéssel történtek, szintén Szegedi Egyetemen.

Szervesanyag-összetétel. A minták előkészítése során előbb mechanikus, kefés tisztítást végeztünk, majd Triton X-100 1%-os oldatában 10 percig keverés mellett mostuk a mintaegyedeket. Ezután a mintát háromszor desztillált vízzel (trideszt) öblítettük, 10 percre 1%-os nátrium-dodecil-szulfát oldatba helyeztük, ismételt tridesztes mosást követően 1 N nátrium-hidroxid oldatban 10 percig áztattuk, majd a minta háromszori tridesztes öblítést követően került további felhasználásra. A feltárási oldatos kezelést megelőzően tömegmérést végeztünk, illetve a legtöbb mintát porítottuk. A mintákat porítás után újfent alávetettük a fenti mosási eljárásnak. A feltárási műveletet steril, egyszer használatos edényekben végeztük, frissen készített törzsoldatokkal. Törzsoldatként EDTA-oldatot (összetétel: 135 g Selecton B₂, 18 g NaOH, 900 ml H₂O), 10%-os (m/m) ecetsavas törzsoldatot és 1 N sósavas törzsoldatot alkalmaztunk. Az EDTA-oldatos feltárási esetén, amely leghosszabb ideig tartott, az elegyhez nátrium-azidot is adtunk. A feltárási oldatokat 20–50%-os feleslegben alkalmaztuk. A dializálás megelőzően a feltárt minták térfogatát lemértük,

majd centrifugálás után a felülúszót leöntöttük az üledékről, melyet a későbbi felhasználásig félretettünk. A felülúszót 6–8 kDa kizárási móltömegű dializáló zsákba töltöttük, és ioncserélt víz ellenében dializáltuk. A dializált oldatot a dializálás befejeztével ismét lemértük, majd liofilizálásnak vetettük alá. Ezután a vízmentesített anyagot a szárazanyag-mennyiségétől függően 300–500 µl térfogatú Laemmler E mintapufferben vettük fel, és a kapott oldatokat -20 °C-on tároltuk.

A fehérjék minőségi analizisét Laemmler-féle poliakrilamid gélelektroforézissel végeztük, melynek során a fehérjék molekulatömegük szerint válnak szét. Mintáinkat 10%-os, fésűs lapgelen futtattuk. A kísérlethez Bio Rad (Richmond, CA) Mini-Proean II. rendszert használtunk [32]. A legtöbb elektroforézis vizsgálat során 20–20 µl mennyiségű mintaoldatot vittünk fel a gélre, és a móltömeg-azonosítás céljából párhuzamosan standard móltömegű fehérjéket és LMW markert (Sigma) is futtattunk. A fehérjéket Coomassie Brilliant Blue R-250-es festéssel (2 órán keresztül) majd gyors ezüstözési eljárással [33] detektáltuk. A két festési eljárást egymást követően alkalmaztuk egyazon gélen, ezáltal az első festéssel csekélyen festődő, kis mennyiségű proteinek az ezüstözés során felerősödve látszanak.

Eredmények

A szervetlen összetevők meghatározása. Az emissziós lángfotometriás, atomabszorpciós spektrofotometriás és a kolorimetriás mérések az alább felsorolt eredményeket adták, az összetevők százalékos arányában. A nátrium nagy arányában a feltárási oldat (melynek pH-ját nátrium-hidroxiddal állítottuk be) is szerepet játszik.

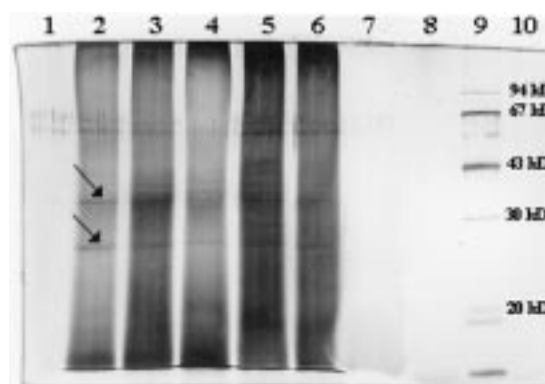
Ca : Mg : Na : K : Fe
72,5% : 1,1% : 20,6% : 5% : -

Az infravörös spektroszkópiás vizsgálatok fő összetevőként a kalcium-karbonátot jelölték meg, és a spektrumban 2800–3000 cm⁻¹ illetve 700 cm⁻¹ hullámszámoknál szerves anyag jelenlétére utaló elnyelési csúcsok is megjelentek. A röntgendiffrakciós mérések is hasonló eredményt hoztak: a kövek fő összetevője kalcit (CaCO₃), illetve a spektrum kis mennyiségű dolomitra (CaMg(CO₃)₂) is utalt. A röntgenfluoreszcenciás vizsgálat ugyancsak megerősítette az eddigi eredményeket: kalciumra és magnéziumra karakterisztikus színképet kaptunk, ezenkívül a mérés minimális vas-, kálium-, réz- és stronciumszennyezést is jelzett. A nummulinák

váza tehát – amint az előre látható volt – voltaképpen viszonylag egyszerű összetételű mészkő, anyagát nagyrészt CaCO_3 és kb. 5% $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ alkotja. *A szerves összetevők meghatározása.* A leggyorsabb feltárási mód a sósavas oldás volt, melyet azonban intenzív gázfejlődés (CO_2) kísért. Az ecetsavas feltárási mód is gázfejlődéssel járt, de jóval enyhébb és elhúzódóbb volt. A leglassabb, de egyben a legkíméletesebb módszernek az EDTA-oldatos eljárás bizonyult, amely nem járt gázfejlődéssel, fokozatosan oldotta fel a mintát, de emiatt a reakció lezajlása több napig is eltartott.

A dialízis során a mintaoldat vizet vett fel, megduzzadt, az EDTA-oldatos feltárási mód esetén átlagban 2–4-szeresére, míg a térfogatnövekedés a másik két feltárási mód esetén csekélyebb, néha szinte elhanyagolható volt. A dializátum liofilizálás utáni végterméke csekély, milligrammos nagyságrendű mennyiségű, fehér, kissé barnás por volt.

Elektroforézissel a következő mintákat vizsgáltuk: (1) porított, illetve zúzatlan, egész minta, (2) különböző feltárási módokban felvett minták (sósavas, ecetsavas és EDTA-oldat), (3) a feltárási mód felülírása, illetve üledéke, (4) különböző mosófolyadékokkal (trideszt, Triton X-100, SDS és nátrium-hidroxidos oldatok) előkezelt minták. Negatív kontrollként a minta nélküli feltárási módokat, a Laemmli E mintapuffert, valamint bizonyos alkotórészekből (SDS, béta-merkapto-etanol) mentes Laemmli E mintapuffereket alkalmaztunk. A feltárási mód alkalmazott feltárási mód minősége kevésbé befolyásolja az elektroforézis során kapott eredményt: nagyjából hasonló elválasztási csíkokat kaptunk mindhárom esetben. A porítás, amely részint a feltárási sebességének javítását, részint a minta jobb reprezentativitását szolgálja, szintén hasonló eredményt ad, mint a zúzatlan minta. Az üledék (a feltárási mód által fel nem oldott frakció) vizsgálata azt mutatja, hogy ebben a frakcióban nincs számottevő mennyiségű fehérje, és ha halvány fehérjecsíkok mégis megjelentek az elektroforézis során, azok megegyeztek az oldott mintákban tapasztalt összetevőkkel. A kísérletek során biztatónak találtuk, hogy csupán kisszámú csík vált láthatóvá, tehát az idegen eredetű szennyeződés mértéke alacsony lehet. (Ezt érdekes módon kevésbé befolyásolta a tisztítási módja). Végeredményben két proteint (fehérjecsíkot) sikerült izolálni (az egyik kb. 35 kDa, a másik 28 kDa molekulatömegű) (3. ábra), mely igazolhatja fosszilis proteinek jelenlétét.



3. ábra Az akrilamid elektroforézis (Laemmli) vizsgálat eredménye. A 2–6. pozícióban öt különböző kövület proteinextraktuma, a 7. oszlopban pedig a feltárási mód során visszamaradó üledékeiből mintapufferral felvett, összegzett (közös) minta futott. A 9. oszlopban az LMW marker látható. A legjobban a 2. oszlopban látható (de a többi minta esetén is felismerhető) két csík közül az egyik kb. 35 kDa, a másik kb. 28 kDa nagyságú.

Megbeszélés

Az irodalmi adatok alapján nem tűnt lehetetlennek, hogy bizonyos fossziliákban kedvező körülmények között egyes makromolekulák több tízmillió évig is fennmaradhatnak. Ezen szempontból a nummulinák szerencsés választásnak bizonyultak, hiszen bőséges mennyiségben álltak rendelkezésre (a kísérletek megismételhetők), és jó megtartási állapotban voltak. A fosszilis fehérjék vizsgálatát megelőzően a szerves váz anyagának összetételét állapítottuk meg. Az irodalommal összhangban, ez túlnyomórészt mészvázra felelt meg, mely előnyös volt számunkra, hiszen a feltárási mód így nem ígérkezett túl nehéznek. Az infravörös spektroszkópiás vizsgálatok eredménye is optimizmusra adott okot a továbbiakra nézve, hiszen a spektrumban szerves anyag jelenlétére utaló elnyelési csúcsok is találhatóak.

Ahhoz, hogy fosszilis proteint ki tudjunk mutatni, ki kellett dolgoznunk a lehetőségeinkhez képest legoptimálisabb vizsgálati módszert, mely gyors, kíméletes és megismételhető. A felületi, mechanikus, illetve mosó-oldószeres tisztítás (Triton, SDS) mellett a porítás nemcsak a feltárási meggyorsítása miatt volt célszerű, hanem az alapos tisztítás érdekében is elengedhetetlen volt. Ezen eljárások során arra törekedtünk, hogy minden olyan fehérjét eltávolítsunk, mely nem záródott a mészvázba. Vizsgálatunk tárgykörébe ugyanis csak a konzervatív, ősi fehérjék estek, melyek mintegy „beletemetkeztek” a kalcium-karbonát kristályba, s így védve voltak a külső körülmények hatásaitól. Vizsgálata-

tainkban tehát elsősorban a vázat alkotó struktúrfehérjéket kívántuk megtalálni. A feltáráshoz legideálisabb módszer az EDTA-oldatos lenne, ha nem venne annyi időt (1–2 hét!) igénybe. Ezen idő alatt – bármily körülményes is – a minta szennyeződhet. Ennek kivédésére alkalmaztunk nátriumazidot, illetve párhuzamos ecetsavas feltárást is.

Az elsődleges, Coomassie Brilliant Blue R-250 festés nem hozott kellő, jól látható eredményt, ezért a rázústozási módszert választottuk. A kis mennyiségek miatt túl kellett hívni a képet, így azonban a háttér (zaj) is felerősödött. Ennek ellensúlyozása érdekében törekedtünk a minél alaposabb tisztításra és dialízálásra, az előhívásnál pedig igyekeztünk azt a pilanatot elkapni, amikor a legélesebb, legtisztább a kép. Egyéb jelölődés a túlhívás ellenére sem (vagy csak elenyésző mértékben) jelent meg, amely azt jelzi, hogy a szennyezés csekély volt, vagy sikerült jól eltávolítani a mintából. Akkor sem kaptunk nagyobb és többféle proteintartalomra, tehát valószínűleg szennyeződésre utaló eredményt, ha a tisztítási lépést mérsékeljük vagy elhagyjuk. Amennyiben azonban a liofilizátumokat hosszabb ideig állni hagyjuk, s csak aztán oldottuk fel Laemmli E oldatban, szennyeződésre utaló képet kaptunk. Ezen példa is mutatja, milyen kívánatos a feldolgozási időt lerövidíteni.

Habár egyértelműen nem sikerült bebizonyítani, hogy a nummulina kövületek tartalmaznak konzervatív, ősi fehérjét, néhány utóbbi kísérletünk biztató eredményeket hozott. Két protein keltette fel az érdeklődésünket: az egyik kb. 35 kDa, a másik 28 kDa molekulatömegnél mutatkozott, ezen csíkok több elektroforézis és több minta esetén is megjelentek, ismétlődtek. A proteinek összetételéről, szekvenciájáról, funkciójáról egyelőre nem tudunk biztosat, de feltételezésünk szerint Ca^{2+} -kötő stuktúrfehérjéről lehet szó.

A fehérjék ősi eredetének valódiságát egyelőre több tényező miatt sem sikerült bizonyítani. Elsősorban a nagyon csekély anyagmennyiségek, valamint a háttér jelintenzitás felerősödése miatt az ezüstözési festés után az elektroforézis nehezen értékelhető. Továbbá az eredmény reprodukálása sajnos nem minden feltárásból volt sikeres. Jövőbeni terveinkben szerepel, hogy amennyiben a protein foszforiláz eredete valódinak bizonyul, megkíséreljük megállapítani e konzervatív fehérje típusát, s tulajdonságait esetleg rokon mai fehérjékkel kívánjuk összehasonlítani. Ezenkívül hamarosan talán olyan

detektálási módszer áll majd rendelkezésünkre, melyben egyszerű elektroforézis eljárás segítségével nagy érzékenységgel mutathatunk ki minimális mennyiségű fehérjéket, akár meglehetősen vegyes összetételű oldatokból, és ez a módszer szerepet kaphat a mindennapi labormunkában is.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton köszönöm meg témavezetőim, Kellermayer Miklós és Ludány Andrea professzorok segítségét. Köszönettel tartozom Kőszegi Tamásnak a fotók elkészítéséért, Ohmacht Róbertnek és Bertalan Ákosnak a szervesetlen analízisben nyújtott segítségért.

Irodalomjegyzék

- [1] Cano, R. J., Poinar, H. N., Pieniazek, N. J., Acra, A., Poinar, G. O., Jr (1993) *Nature*, **363**: 536–538.
- [2] DeSalle, R., Gatesy, J., Wheeler, W., Grimaldi, D. (1992) *Science*, **257**: 1933–1936.
- [3] DeSalle, R., Grimaldi, D. (1994) *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **4**: 810–815.
- [4] Paabo, S. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **86**: 1939–1943.
- [5] Woodward, S. R., Weyand, N. J., Bunnell, M. (1994) *Science*, **266**: 1229–1232.
- [6] Handt, O., Hoss, M., Krings, M., Paabo, S. (1994) *Experientia*, **50**: 524–529.
- [7] Austin, J. J., Ross, A. J., Smith, A. B., Fortey, R. A., Thomas, R. H. (1997) *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **264**: 467–474.
- [8] Krings, M., Stone, A., Schmitz, R. W., Krainitzki, H., Stoneking, M., Paabo, S. (1997) *Cell*, **90**: 19–30.
- [9] Gutierrez, G., Marin, A. (1998) *Mol. Biol. Evol.*, **15**: 926–929.
- [10] Lindahl, T. (1997) *Cell*, **90**: 1–3.
- [11] Lindahl, T. (2000) *Curr. Biol.*, **10**: R616.
- [12] Poinar, H. N., Stankiewicz, B. A. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**: 8426–8431.
- [13] Weiner, S., Lowenstam, H. A., Hood, L. (1976) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **73**: 2541–2545.
- [14] de Jong, E. W., Westbroek, P., Westbroek, J. W., Bruning, J. W. (1974) *Nature*, **252**: 63–64.
- [15] Ulrich, M. M., Perizonius, W. R., Spoor, C. F., Sandberg, P., Vermeer, C. (1987) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **149**: 712–719.
- [16] Gurley, L. R., Valdez, J. G., Spall, W. D., Smith, B. F., Gillette, D. D. (1991) *J. Protein Chem.*, **10**: 75–90.
- [17] Borja, C., Garcia-Pacheco, M., Olivares, E. G., Scheuenstuhl, G., Lowenstein, J. M. (1997) *Am. J. Phys. Anthropol.*, **103**: 433–441.
- [18] Cattaneo, C., Gelsthorpe, K., Phillips, P., Sokol, R. J. (1992) *Am. J. Phys. Anthropol.*, **87**: 365–372.
- [19] Franc, S., Marzin, E., Boutillon, M. M., Lafont, R., Lechene de la Porte, P., Herbage, D. (1995) *Eur. J. Biochem.*, **234**: 125–131.
- [20] Lowenstein, J. M. (1981) *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **292**: 143–149.
- [21] Tuross, N., Stathopoulos, L. (1993) *Methods Enzymol.*, **224**: 121–129.
- [22] Rozlozsnik, P. (1920) Bevezetés a nummulinák és Assilinák tanulmányozásába. *Klmy. M. Kir. Földtani Intézet Évkönyve*, **26**: 1. füz.
- [23] Géczy, B. (1986) *Őslénytan. Tankönyvkiadó, Budapest* pp. 50–100.
- [24] Pawlowski, J., Bolivar, I., Fahrni, J. F., de Vargas, C., Gouy, M., Zaninetti, L. (1997) *Mol. Biol. Evol.*, **14**: 498–505.
- [25] de Vargas, C., Pawlowski, J. (1998) *Mol. Phylogenet. Evol.*, **9**: 463–469.
- [26] de Vargas, C., Zaninetti, L., Hilbrecht, H., Pawlowski, J. (1997) *J. Mol. Evol.*, **45**: 285–294.
- [27] Wade, C. M., Darling, K. F., Kroon, D. L., Brown AJ (1996) *J. Mol. Evol.*, **43**: 672–677.
- [28] Wray, G. C., Langer, R. M., DeSalle, R., Lee, J. J., Lipps, H. J. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **92**: 141–145.
- [29] Pawlowski, J., Bolivar, I., Guiard-Maffia, J., Gouy, M. (1994) *Mol. Biol. Evol.*, **11**: 929–938.
- [30] Travis, J. L., Kenealy, J. F., Allen, R. D. (1983) *J. Cell. Biol.*, **97**: 1668–1676.
- [31] Ohmacht, R., Jobst, K. (1977) *Acta Chirurg. Acad. Hung.*, **18**: 49–57.
- [32] Laemmli, U. K. (1970) *Nature*, **227**: 680–685.
- [33] Willoughby, E. W., Lambert, A. (1983) *Anal. Biochem.*, **130**: 353–358.

FELHÍVÁS

kutatócsoportok, vállalkozások részére Részvétel az EU 5. Kutatási, Technológiafejlesztési és Demonstrációs programjaiban **1999–2002**

Az Európai Unió 5. Kutatási, Technológiafejlesztési és Demonstrációs Keretprogramjában (EU 5. KTF keretprogram) való minél nagyobb mértékű és jobb minőségű magyar részvétel elősegítésére a **Magyar Élelmiszeripari Tudományos Egyesület (MÉTE)**, a **Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem Élelmiszeripari Kara (KÉE Élelmiszeripari Kar)**, a **Magyar Kertészeti Tudományos Társaság (MKTT)**, a **Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium Műszaki Intézete (FVM MI)**, a **Központi Élelmiszer-**



ipari Kutató Intézet (KÉKI), a **MTA Növényvédelmi Kutatóintézete (MTA NKI)** és a **Magyar Biokultúra Egyesület (MBKE)** konzorciális megállapodást hoztak létre. A konzorcium általános információgyűjtést (az EU 5. KTF tájékoztatók és pályázatok rendszeres figyelése, feldolgozása, rendszerezése, szűrése és nyilvántartása), -ismertetést és konzorciális partnerközvetítést végez, valamint igény szerint közreműködik a pályázatok megírásában és a projektmenedzselésben az alábbi specifikus EU 5. KTF programok és kulcsakciók területén:

Az EU 5. „Élelmiszer, Táplálkozás és Egészség”
(Quality of Life and Management of Living Resources „Food, Nutrition and Health”) Koordinációs Iroda felhívja a figyelmet az alábbiakban ismertetett pályázati lehetőségekre 2001–2002-ben:
(a lista a Koordinációs Iroda működési területét érintő programokat/kulcsakciókat és a vonatkozó pályázati határidőket tartalmazza)

		2001.		2002.
		feb.	okt.	feb.
1. Élelmiszer, táplálkozás és egészség	1.1/1.2 Élelmiszer-nyersanyagok, feldolgozás, nyomon követhető eredetmeghatározás; élelmiszerbiztonság			X
	1.3 Élelmiszerek az egészség elősegítésében, fenntartásában	X		X
3. A sejt mint „gyár” (Biotechnológia)	3.1.1 Új diagnosztikumok és készítmények		X	X
	3.1.2 Biológiai készítmények	X		
	3.1.3 Állatokkal történő tesztelés alternatívái			X
	3.2.1 Ipari szennyezés megelőzése	X		
	3.2.2 Biotesztek és bioszenzorok			X
	3.2.3 Biobomlás	X		
	3.2.4 Biodiverzitás			X
	3.2.5 A rekombináns szervezetek azonosítása		X	
	3.3.1 Celluláris és molekuláris tulajdonságok	X		X
	3.3.2 Mikrobákból, növényekből és állatokból származó termékek, illetve azokkal kapcsolatos folyamatok		X	
3.3.3 Funkcionális biomolekulák		X		
3.3.4 Metabolikus és genetikai diverzitás			X	
4. Környezet és egészség	4.1.1 Környezeti tényezők hatása			X
	4.1.2 Az egészségre gyakorolt hatások becslése			X
	4.1.3/4.2/4.2.1 Kockázatkezelés; A környezet egészségügyi kockázatainak értékelése/mérséklése; Környezeti kockázatok becslési módszerei		X	
	4.2.2 Prediktív toxicitáspróbák			X
5. Fenntartható mezőgazd./halászat/erdészet, vidéki/hegyvidéki területek integrált fejlesztése	5.1/5.2/5.3/5.4/5.5 Új és/vagy tökéletesített termelési rendszerek; Biológiai anyagok integrált termelése; Erdők; A közösségi politika támogatása; Új eszközök és modellek a vidéki és más területek integrált és fenntartható fejlesztésére		X	
6. Öregedő népesség és munkaképtelenség	6.1/6.2/6.3/6.4/6.5 Öregkori betegségek és egészségügyi problémák; az öregedés demográfiája és epidemiológiája; időskori funkciócsökkenések; egészségügyi/szociális szolgáltatások időseknek	X		X
Generikus jellegű kutatási és technológiafejlesztési aktivitások			X	

Az EU 5. program felhívásait, a pályázatok határidőit, a feltételeket, a pályázatok részletes leírását megtalálja a <http://www.cordis.lu> valamelyik lapján angol, német vagy francia nyelven. Magyar nyelvű információkat közül rendszeresen az OMIKK (<http://5kp.omikk.hu/QuL2000nov15.htm>), a MTESZ és az élelmiszercsoportban a MÉTE (<http://www.mete.mtesz.hu/eu5/palyhi.htm>) is.

További információk: <http://www.julia-nki.hu>

AKTIVIT **hirdetés**

Beszámoló a 2. Kalpain Konferenciáról

FASEB Summer Research Conference: The calpain gene family in health and disease
June 30 – July 5, 2001, Whitefish, Montana

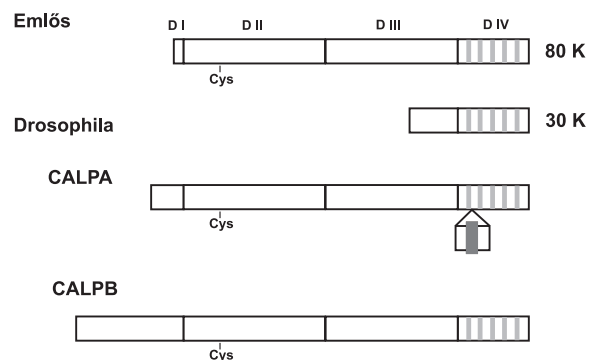
A Federation of American Societies for Experimental Biology immár másodízben rendezett kutatókonferenciát a kalpainok témájában. Az elsőt *Copper Mountain*ben (Colorado) tartották 1999-ben, a harmadikat pedig előreláthatólag Oregon államban, Portland környékére szervezik 2003-ra. E rendezvények létjogosultságát a kalpainkutatók meredek felfutása adja. A FASEB ezen rendezvényei a Gordon-konferenciákhoz hasonlatosak, amennyiben csak a szakterület aktív művelői látogathatják, írott anyag az előadásokról nem készül, csak a programot és a poszterkivonatokat kapják meg a résztvevők egy fénymásolt paksamétában. Az új információt itt döntően fejben kell tárolni.

Mi részt vettünk mind a két konferencián (F.P. meghívott előadóként, T.P. poszterrel). A legjobb poszterekből egy zsűri a korábbi konferencián hármat, ezúttal pedig négyet kiemelt, ezek rövid előadásban (is) összefoglalták eredményeiket, és Murachi-díjban részesültek (oklevél + 250 USD). Az első konferencián T.P. Murachi-díjat kapott. (Takashi Murachi a kalpainkutatók néhai vezéralakja, a kalpainok névadója.) Az idén 28 előadás (40 perces) hangzott el, és 32 posztert mutattak be; összesen mintegy 80 fő vett részt a rendezvényen.

Mik is hát a kalpainok?

A kalpainok Ca^{2+} -aktivált neutrális, citoplazmatikus SH-proteázok, melyek minden állati sejten előfordulnak. Ez a definíció ugyan csak a kezdetben megismert, legtöbbet vizsgált, ún. μ - és m -kalpainokra érvényes (az elnevezés onnan ered, hogy μM illetve mM koncentrációjú Ca^{2+} -iont igényelnek aktiválásukhoz), a kalpain szupercsaládba azonban sokféle, e „kanonikus” kalpainoktól jelentősen eltérő szerkezetű és funkciójú fehérje is beletartozik. A kalpainok a sejten belüli jelfeldolgozás enzimeit, amelyek szubsztrátfehérjéiken limitált proteolízist hajtanak végre, ezáltal új funkcionális állapotba hozva ezeket. Általános, illetve szövetspecifikus előfordulásuk révén számos élettani és kórtani folyamat feltételezett résztvevői. A μ - és m -kalpainok egy nagy (80 kDa, katalitikus) és egy kis (30 kDa, regulátor) alegységből állnak. A többi kalpain

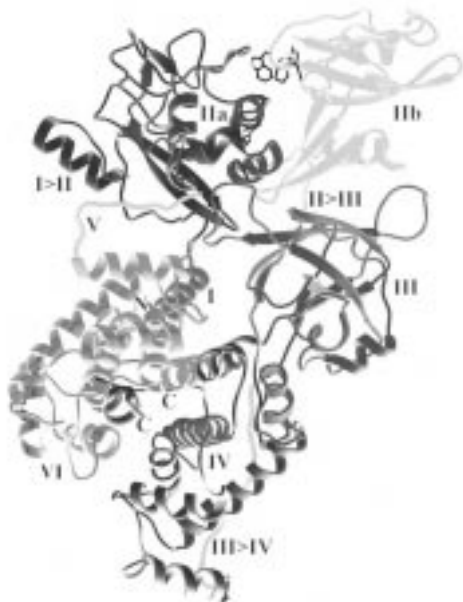
kis alegységet nem tartalmaz. A nagy alegységek szerkezetében (1. ábra) négy domént különböztetnek meg: az *N*-terminális I. domént, amely Ca^{2+} aktiváláskor lehasad, a II. (katalitikus) papainszerű domént, a III. domént, melynek legújabbban a Ca^{2+} és foszfolipid-kötésben tulajdonítanak szerepet [Tompa, P., Emori, Y., Sorimachi, H., Suzuki, K., Friedrich, P. (2001) *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **280**: 1333–1339.], valamint a IV. domént, amely kalmodulinszerű és öt Ca^{2+} -kötő EF-kéz motívumot tartalmaz. Részleteiben vitatott, de nagyjából elfogadott elképzelés, hogy az inaktív (natív) proenzim Ca^{2+} hatására konformációs változáson megy át, aktiválódik, miközben *N*-terminálisából egy rövid peptidszakasz lehasad, és a heterodimer enzim – valószínűleg – disszociál.



1. ábra Emlős és *Drosophila* kalpainok doménszerkezete. A kanonikus emlős kalpainok két alegységből álló heterodimer enzimek. Az aktív centrum oldalláncai a nagy (80 kDa) alegység II. doménjében találhatóak, a kalcium kötéséért a IV. domén, illetve a kis alegység EF-kéz struktúrái (szürkével jelölve) felelősek.

Az első konferencia „szencációja” a patkány *m*-kalpain háromdimenziós szerkezetének megoldása volt, 2,6 Å felbontásban [Hosfield, C.M., Elce, J.C., Davies, P.L., Jia, Z. (1999) *EMBO J.*, **18**: 6880–6889] – igaz ugyan, hogy ez az inaktív (pro) enzimre vonatkozott, Ca^{2+} távollétében (2. ábra). A szerkezetben feltűnő, hogy az aktív centrumot képző Cys105, illetve His262 és Asn286 oldalláncokat a II. doménben egy mély szakadék választja el egymástól, s csupán ennek záródásával alakulhat ki a működő

katalitikus triád. A Ca^{2+} -iont megkötött, aktív enzim szerkezetét eddig nem sikerült meghatározni, mert Ca^{2+} jelenlétében tömény oldatban a kalpain nem kristályosodik, hanem aggregál. A katalitikus domén kettéhasítottága módot nyújthat igen specifikus kalpaininhibitorok kifejlesztésére (3. ábra), ami különböző terápiás beavatkozásokat tenne lehetővé (ld. alább).



2. ábra A patkány *m*-kalpain röntgendiffrakciós szerkezete. A szerkezet jellegzetessége, hogy kalcium hiányában a II. domén szerkezetileg két különálló aldoménre (IIa és IIb) tagolódik, és így az aktív centrum oldalláncai egymástól nagy távolságra helyezkednek el. Az enzim aktiválódásához kalcium jelenlétében nagymértékű szerkezeti átrendeződésnek kell lejárnia.

A szerkezet-hatás összefüggés-vizsgálatok szempontjából a mostani konferencia is hozott újdonságokat. Az egyiket P. Davies és mtsai (Queen's University, Ontario) szolgáltatották, akik mégis kikristályosították a Ca^{2+} -kötött enzimformát, és meghatározták ennek röntgenkristallográfiás szerkezetét: a fehérjén valóban papainszerű aktív hely alakult ki. A dolog szépséghibája, hogy ezt nem a teljes enzimmal, hanem csak a külön kifejeztetett II. doménnal érték el, amely két Ca^{2+} -iont köt, eddig nem gyanított helyeken, továbbá az, hogy az aktivitás csupán 1–2%-a a teljes enzimmal elérhetőnek. Egy másik, meglepő újdonsággal az ifjú Angela Glading (Pittsburgh) állt elő, aki azt találta, hogy az *m*-kalpaint a Ser 50 helyen ERK enzimekkel (*extracellular signal-regulated protein kinase*, más néven

mitogen-activated protein kinase, *MAP kinase*) foszforilálva, az enzim Ca^{2+} nélkül is aktív. A *m*-kalpainra ez nem áll. Ha az utánvizsgálatok ezt megerősítik, a kalpainok szabályozásában a fehérjefoszforilálás is számolni kell!

3. ábra (lásd a címlapon) Penta-Ala peptid az *m*-kalpain aktív centrumát kettéválasztó árokban. A kalpainra abszolút specifikus inhibitor lehet a II. domént kettéválasztó árokba kötődő peptid, mivel megakadályozhatja az aktív centrum kialakulását, és így az enzim aktiválódását. Az ábrán a megfelelő helyre illesztett penta-Ala peptid mutatja, hogy az inhibitor számára elegendő hely van az árokban. (Az ábrát Szilágyi András [MTA SZBK Enzimológiai Intézet] készítette.)

A kalpainkutatók jövője – mint azt egy külön ülészak tárgyalta – elsősorban az *in vivo* fiziológiás és patológiai funkciók feltárásában van. Ez abban állna, hogy megállapítsuk, a sejtek normális és kóros folyamataiban a kalpainok hol, milyen szubsztátokat hasítanak, milyen sorrendben és következménnyel. Bár sok adat gyűlt már össze, a kép nagyon töredékes. Új megközelítésekre van szükség. Az I. táblázat összegzi eddigi fontosabb ismereteinket az egyes kalpainfajták élettani-kórtani szerepéről. A konferencia idejének több mint felét ezek tárgyalása tette ki. Előtérben állt a kalpain 3 (CAPN3), melynek sérülése izomdisztrófiát okoz, a kalpain 10, melynek mutációja 2. típusú, inzulinfüggetlen diabeteshez vezet, valamint a normál szemlencse fejlődéséhez szükséges, illetve a szürkehályog (katarakta) kialakulásáért felelős Lp82 és Lp85 formák. Az már elfogadott nézetnek számított, hogy az ubikviter kalpainok túlaktiválása a sejten belüli Ca^{2+} kóros megemelkedése folytán sejtnekrózishoz vezet, elsősorban az idegrendszerben. Ennek kivédésére lehetnek alkalmasak a specifikus és a sejtekbe bejutó inhibitorok. A. Stracher (SUNY, Brooklyn) már eddig is kanálszám etette a leupeptin (nem specifikus kalpaininhibitor) vizes oldatát neurodegeneratív betegségekben szenvedő betegekkel, és gyakran tapasztalt klinikai javulást. Bátraké a szerencse?

Saját szereplésünkről: bár már figyelnek emlős (humán) kalpainokkal kapott eredményeinkre, a *Drosophila* kalpain terén vagyunk „egyeduralkodók”. Habár ez kicsiny birodalomnak tűnhet, jelentősége nem elhanyagolható, mert e viszonylag egyszerű szervezetben számos kérdés könnyebben megválaszolható; innen a kollégák együttműködési hajlama.

I. táblázat A kalpainok élettani és kórtani szerepe

Élettani folyamat	Kalpainforma	Kórtani folyamat
Tanulás, memória	CALPA CALPB CAPN1	–
–	CAPN1, 2	Trauma, stroke, ischemia: sejtnekrózis
Sejtosztódás- és vándorlás	CAPN1, 2	Tumornövekedés, metasztázis
Izomfejlődés	CAPN3	Izomdisztrófia (LGMD2A)
Szemlencsefejlődés	Lp85	Szürkehályog
?	CAPN10	2. típusú diabetes mellitus
Neuritnövekedés (CDK 5-p35)	CAPN1, 2	Alzheimer-kór (PHF), egyéb taupátiák (dementia és parkinsonizmus)

E magas színvonalú, igen hasznos konferencián – magyar szempontból – csak egyetlen kivéttnivaló volt: igen messze, az Egyesült Államok északnyugati csücskében, festői, ám körülményesen megközelíthető hegyek között rendezték. A szakterületet

domináló amerikaiaknak és japánoknak ez nem okozott különös kényelmetlenséget, mi viszont odafelé 29 órát utaztunk. Aki végigcsinált már ilyesmit, velünk érez...

Friedrich Péter és Tompa Péter



UNITED NATIONS INDUSTRIAL DEVELOPMENT ORGANIZATION
INTERNATIONAL CENTRE FOR SCIENCE AND HIGH TECHNOLOGY
ICS Workshop on



“TRENDS AND APPLICATIONS OF COMBINATORIAL CHEMISTRY AND COMBINATORIAL TECHNOLOGIES”

Budapest, Hungary 15–18 October, 2001

Purpose: Provide the participants from the region with updated knowledge on modern technologies and state-of-the-art overviews on the recent developments in the field of combinatorial chemistry and combinatorial technology. Problems related to combinatorial science running on as result of industrial and scientific development in the countries of Central-Eastern Europe will be discussed. The workshop will be based on theoretical lectures, practical demonstrations, case studies, interactive small-group seminars, and interactive problem-solving exercises. Stimulate international research and technology transfer and enhance international co-operation through possible joint or follow-up projects

and feasibility studies by identifying regional R&D&I Centers in the region through contacts established with the participants of the workshop.

Participation is open to scientists, researchers, postgraduate students, government administrators, industrialists and managers involved in the field of combinatorial science or willing to introduce the adequate modern combinatorial technologies in their countries. Preference should be given to participants who actively participate in their countries research programmes using tools of combinatorial chemistry and who are involved in their implementation.

The workshop is sponsored by ICS-UNIDO. **There is no registration fee.** Travel and living expenses will be free

for a limited number of participants selected by ICS-UNIDO. Self-financed participation is encouraged.

Scientific Committee of the Workshop: Prof. Gábor Dibó (Eötvös University, Hungary), Prof. Stanislav Miertus (ICS-UNIDO), Dr. Giorgio Fassina (Italy), Dr. Pierfausto Seneci (Germany).

Organising committee: Dr. Péter Arányi (Chinoin-Sanoffi, Hungary), Prof. Gábor Dibó (Eötvös University, Hungary), Dr. István Greiner (Gedeon Richter, Hungary), Prof. István T. Horváth (Eötvös University, Hungary), Dr. András Kotschy (Eötvös University, Hungary), Dr. László Kovács (Infarmatik, Hungary), Prof. Gábor Náray-Szabó (Ministry of Education, Hungary)

For more information, contact:

Prof. Gábor Dibó, Department of Organic Chemistry, Eötvös University
PO Box 32, Budapest 112, Hungary, H-1518

Phone: +36-1-372-2771; Fax: +36-1-372-2620, E-mail: dibo@szerves.chem.elte.hu

KVALITEX

hirdetés

Beszámoló a Magyar Biokémiai Egyesület Molekuláris Biológiai Szakosztályának 6. Munkaértekezletéről

A hazai molekuláris biológiai kutatás éves sereg-szemléje az idén ismét a Sárospataki Művelődési Házba vonzotta az érdekelteket. Örvedetes módon, a munkaértekezleteken a résztvevők között növekvő számban szerepelnek az egyre fiatalabb tudóspalánták: egyetemisták, doktori iskolás hallgatók mellett az idei rendezvényen gimnazista diák is részt vett. Az elmúlt évek tapasztalátára alapozva, nyolc szekcióban 50 előadás hangzott el és 107 poszter került bemutatásra, a következő megoszlásban: *Sejtosztódás szabályozása* szekció (5 előadás, 0 poszter), *Molekuláris diagnosztika* (7/23), *Szerkezeti biológia* (8/19), *Sejtbiológia* (7/27), *A génexpresszió szabályozása* (6/11), *Funkcionális genomika* (5/8), *Növényi molekuláris biológia* (6/4) és *Jelátvitel és jelfeldolgozás* (6/15).

A *Sejtosztódás szabályozása* szekció az eukarióta rendszerekre összpontosított, ezen belül tág körben lefedve az élesztőgombákra, növényekre és állatokra (köztük az emberre) jellemző sajátságokat. A *Molekuláris diagnosztika* szekción belül egyes kórképek mellett hallhattunk módszertani előadásokat is. A *Szerkezeti biológia* szekció sikeresen egyesítette a témakörben különböző metodikákkal elért eredményeket (molekuláris biológia, „fehérjemérnökség”, feltekeredés (*foldíng*) vizsgálatok, fehérjekémia, enzimkinetika, biofizika, röntgenkrisztallográfia). Apoptózis, immunológia, dajkafehérjék, receptorok címszavak köré csoportosítható a *Sejtbiológia* szekció anyaga, és idekerült még az egyedi titinmolekulákon végzett elaszticitási vizsgálatokat bemutató előadás, mely talán inkább a *Szerkezeti biológiához* állt volna közelebb. Sokat hallhattunk a molekuláris genetika egyik kedvenc kísérleti anyáról, az ecetmuslicáról A *génexpresszió szabályozása* szekcióban, ahol helyet kapott a porcfejlődés és a DNS metilációs mintázat szerepének elemzése. Újdonságként mindenképpen kiemelendő a *Funkcionális genomika* szekció első hazai megrendezése. Ennek keretében a globális megközelítés előnyeit és hátrányait ismerhettük meg, többek között azt is, hogy miért és mennyire hibásak az eddig közzétett



A sárospataki várkastély ún. Sub Rosa erkélyszobája.

A „rózsa alatt” kitétel a festett boltozat zárókövét díszítő stilizált rózsára utal, mely átvitt értelemben titkosságot jelent. Volt is valódi történelmi ok a megnevezésre, itt Sárospatakon szerveződött ugyanis a Wesselényi-összeesküvés 1670 előtt. A hagyomány szerint ebben az erkélyszobában tanácskoztak a felkelés vezetői, I. Rákóczi Ferenc, Nádasdy Ferenc, Zrínyi Péter és Frangepán Ferenc. A felkelés elbukott, ki ne ismerné Madarász Viktor magával ragadó festményét, mely Zrínyit és Frangepánt ábrázolja, kivégzésük előtt a bécsújhelyi börtönben. A pataki vár továbbra is fontos színtere maradt a Habsburg-ellenes kuruc küzdelmeknek, itt tartották a Rákóczi szabadságharc kuruc országgyűlését 1708-ban. Munkaértekezletünk a titoktartással épp ellentétes módon közléni igyekezett a legújabb hazai molekuláris biológiai eredményeket. Rossz nyelvek szerint talán ezzel függhet össze, hogy a Sub Rosa termet nem láthattuk (bár a vármúzeum őrrei renoválásra hivatkoztak).

számítógépes elemzések, és hogyan javíthatunk ezeken, ha kedvenc génjeinket vadásszuk éppen. Az *Arabidopsis thaliana*, a növényi molekuláris genetika kedvenc modellje uralta a *Növényi molekuláris biológia* szekciót, emellett vírusindukált géncsen-desítés és endoreduplikáció szerepelt a program-

ban. A *Jelátvitel és jelfeldolgozás* szekcióban hemzsegték a misztikus rövidítésekkel jellemzett kinázok és foszfatázok, receptorok és koreceptorok, szuppresszorok és aktivátorok, és említést nyert a kalciumion egy újabb szerepe egy specifikus NADH-oxidáz protoncsatornaként való működésében.

A szakosztályi munkaértekezletek arra kínálnak egyedi lehetőséget, hogy évről évre nyomon követhessük a hazai tudományos műhelyek tevékenységét. Ebből adódóan a bemutatott anyag a molekuláris biológia számos szakterületét lefedi, ellentétben a szűkebb érdeklődésre számot tartó tematikus konferenciákkal. A modern molekuláris biológiai kutatások egyre inkább igénylik a sokoldalú megközelítést, melyhez hasznos kiindulási és tájékoztató pontokat nyerhettünk most legutóbb is Sárospatakon. Mind az előadások, mind a poszterek között számos szép példát láthattunk arra is, hogy a sokoldalú megközelítés iránti követelményt több kutatóhely együttműködése teljesíti. Ez a tendencia egybecseng az újabb pályázati követelményekkel, melyek mind a hazai (nemzeti kutatásfejlesztési programok), mind a nemzetközi szinten az együttműködő csoportok törekvéseit részesítik előnyben (az EU 6. keretprogramja ebben a tekintetben már megakonzorciumok felé mozdul el).

A hazai tudományos műhelyek tevékenysége mellett a munkaértekezlet programja immár hagyományosan teret kínál néhány magyar származású, ám tartósabb ideig vagy állandóan külföldön dolgozó kutató által tartott előadásra. Az idei rendezvényen hat ilyen előadást hallhattunk, különböző európai egyetemekről, illetve kutatóintézetekből. Ezek a prezentációk amellet, hogy általában magas színvonalú munkát ismertetnek, lehetőséget nyújtanak a külföldi magyar kollégákkal való kapcsolattartásra.

A legszínvonalasabb előadások és poszterek díjazására idén is sor került. A Magyar Biokémiai Egyesület a két legjobb fiatal előadó számára felajánlott díjait Szűts Dávid (Cambridge-i Egyetem, előadás címe: *A DNS replikáció elindításához szükséges fehérjék izolálása humán citoplazmából*) és Kevei Éva (SZBK Növénybiológiai Intézet, előadás címe: *Cirkádián óra mutánsok azonosítása Arabidopsis-ban*) nyerték el. A Sigma-Aldrich vegyszervásárlási utalványait a három legjelentősebb poszter szerzői kapták:

Benkő Szilvia (I. díj, Debreceni Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, cím: *Retinsav receptorok kofaktor cseréjének vizsgálata mutagenézissel*), Bereczky Zsuzsa (II. díj, Debreceni Egyetem, Klinikai Biokémiai és Molekuláris Patológiai Intézet, cím: *Öröklött X-es faktor hiány molekuláris genetikai vizsgálata*) és Farkas László (III. díj, ELTE Biokémiai Tanszék, cím: *Egy Ca²⁺-kötő konvencionális miozin regulációs doménjának szerkezete*). A Bio-Science Kft. közleménydíját Bánfi Botond (Simmelweis Egyetem, Élettani Intézet) és mtsai által írt cikk nyerte el [Bánfi, B., Maturana, A., Jaconi, S., Arnadeau, S., Laforge, T., Sinha, B., Ligeti, E., Demaurex, N. és Krause, K.H. (2000) *A mammalian H⁺ channel generated through alternative splicing of the NADPH oxidase homolog NOH-1. Science, 287: 138–142.*]. A Csertex Kft. által a legkorszerűbb technikát bemutató fiatal kutató számára felajánlott díjat Puskás László (SZBK DNS-chip laboratórium) kapta (előadásának címe: *DNS-chipek a funkcionális molekuláris biológiában*).

A Magyar Biokémiai Egyesület szervezői figyelmes munkával biztosították a rendezvény zökkenőmentes lefolyását. Ebben a Sárospataki Művelődési Ház munkatársai is fontos segítő szerepet vállaltak. Az előadások technikai lebonyolítása ugyan gyakran ütközött kisebb-nagyobb nehézségekbe, de ennek elsődleges okát a számítógépes projektor nehézkes távvezérlése okozta csupán. A hagyományos technikát követő előadók így gördülékenyen villanthatták diáikat, míg a számítógépes vetítést használók közül csak azok lehettek biztosak dolgukban, akik a távvezérlés helyett a számítógép melletti helyi irányítást választották. A *PowerPoint* program használata bizonyára még elterjedtebbé válik a jövőben, mert ennek segítségével előadásainkat könnyen, gyorsan és újrafelhasználható módon építhetjük fel. Érdemes lenne arra is jobban odafigyelni, hogy az adott konferencia színhelyén a számítógépes vetítés milyen formában áll rendelkezésre, ez ugyanis nagyban meghatározza majd a prezentáció sikerét.

A reprezentatív vacsorák/fogadások kiváló keretet szolgáltattak az előadások és poszterek megvitatásában formálódott új kapcsolatok elmélyítéséhez és a régebbiek felelevenítéséhez, így összességében is sikeres, pezsgő hangulatú négy nap után zárult a munkaértekezlet.

Vértessy Beáta

Fiatal Biotechnológusok Nívódíja

Tájékoztató a Magyar Biokémiai Egyesület és a 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 a MTA Biomérnöki Munkabizottságának elnöke, Dr. Szajáni Béla a MBKE főtitkárhelyettese, Dr. Szentirmai Attila a MBKE Biotechnológiai Szakosztályának volt elnöke) ez évben hat egyetemen adott ki Nívódíjat.

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

Tardy Gábor Márk (BMGE, Mezőgazdasági Kémiai Technológia Tanszék, témavezető: Dr. Jobbágy Andrea) *„Fermentációs gyártástechnológia szennyvizének hatásai egy eleveniszapos rendszerben”*

Váczy Kálmán Zoltán (Debreceni Egyetem, Mikrobiológia és Biotechnológiai Tanszék, témavezető: Dr. Karaffa Levente) *„Peroxidok szerepe az *Acremonium chrysogenum* cianid-rezisztens alternatív légzésének szabályozásában”*

Kármán József (ELTE, Immunológiai Tanszék, témavezető: Dr. Erdei Anna) *„A humán és egér szérum amyloid P (SAP) influenzafertőzés-gátló hatásának vizsgálata; rekombináns egér SAP előállítására *Pichia pastoris* expressziós rendszerben”*

Maróti Gergely (Szegedi Tudományegyetem, Biotechnológiai Tanszék, témavezetők: Dr. Kovács L. Kornél, Dr. Rákhely Gábor) *„A *Thiocapsa reseopersicina* (Ni-Fe) hidrogenáz enzimeinek bioszintézisében szerepet játszó gének azonosítása és jellemzése”*

Vékony Éva (Szent István Egyetem, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék, témavezető: Dr. Maráz Anna) *„A hártvaképzés mechanizmusának, mikromorfológiájának és fiziológiájának vizsgálata borélesztőknél”*

Váradai Zoltán (BMGE – Semmelweis Egyetem, Orvosbiológiai mérnökképzés, BMGE Finommechanikai Optikai Tanszék, témavezető: Dr. Ábrahám György) *„A csatornaelmélet interpretációja széles sávú színekre”*

A jutalmazottaknak e helyen is gratulálunk, és valamennyiüknek sikeres tudományos életutat kívánunk. Budapest, 2001. július

Nyeste László
az Operatív Bizottság elnöke



A *Federation of European Biochemical Societies* (FEBS) weboldalán új levelezőlista indult, amely E-mail útján tájékoztat minden érdeklődőt a FEBS akcióiról, eseményeiről, Főtitkárságának, illetve tagintézményeinek híreiről. Az új kezdeményezéssel kapcsolatban a FEBS Főtitkári Irodája az alábbi levelet juttatta el tagszervezeteihez:

Ézúton szeretném felhívni az érintettek figyelmét arra, hogy FEBS-tagjaink részére weblapunkon (<http://www.febs.unibe.ch/>) e-mail önregisztrációs űrlapot nyitottunk. A hozzánk bejelentkező e-mail címetében jobb információközlést tudunk biztosítani a FEBS Főtitkári Iroda (FEBS Office of the Secretary-General) és a tagok között, valamint a FEBS tevékenységével, ezen belül is folyóiratainkkal kapcsolatban gyorsabban el tudjuk juttatni tagjainkhoz a lényeges tudnivalókat. Amint a weblapon is jeleztük, a bejelentkezők által nyújtott információkat harmadik félnek kereskedelmi célra nem adjuk ki.

Julio Celis, a FEBS főtitkára

STRATHKELVIN

hirdetés

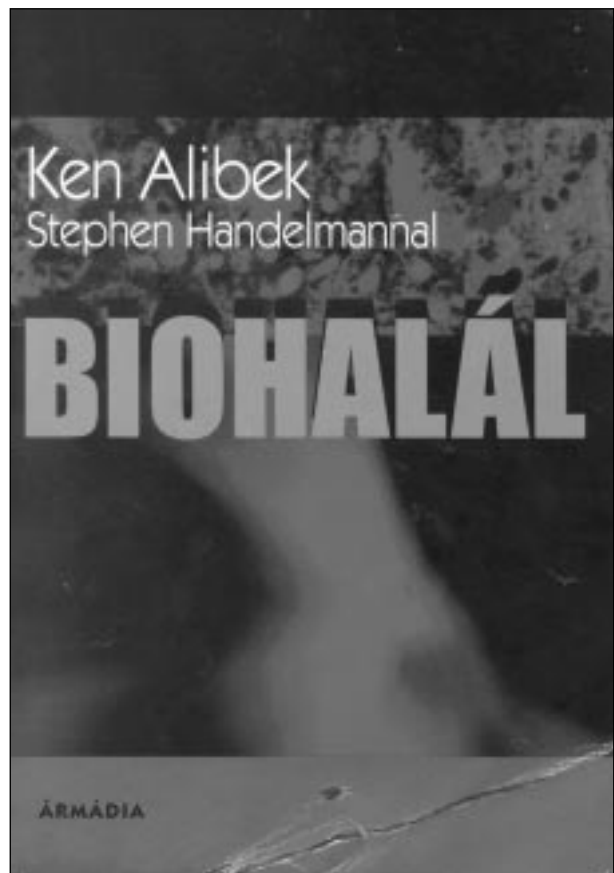
Ken Alibek, Stephen Handelman: BIOHALÁL

(Könyvismertetés)

Ármádia Kiadó, Budapest, 2000

Izgalmas, elgondolkodtató egyszersmind sokkoló hatású könyv látott napvilágot az ezredforduló hajnalán a *biológiai fegyvergyártásról*, Félix Pál fordításában. A biológiai fegyvergyártás problémaköre nem új, annál inkább agyonhallgatott. Ennek is köszönhető, hogy a most első ízben nyilvánosságra hozott információk az újdonság erejével hatnak minden olvasóra. A könyvet 1999-ben írta egy Ken Alibek nevű kazah származású kutató, aki húsz éven át foglalkozott a Szovjetunióban, illetve Oroszországban biológiai fegyverek kutatásával és fejlesztésével. A Szovjetunió szétesése után – kazahsztáni eredetű lévén – nem lelte honját hazájában, és végül az Amerikai Egyesült Államokba menekült. Itt jelentette meg vallomásnak is beillő könyvét a „Time” publicisztája, Stephen Handelman segítségével.

Könnyű lenne elhessegetni fejünkből a biológiai fegyverkezés rémképét azzal, hogy Magyarország nem vesz részt ilyen kutatásokban. Egy átlag állampolgár előtt azonban láthatatlanok a biológiai fegyvergyártásra irányuló fejlesztések. Hazánk nemcsak Európa, de a globális civilizáció része is. Akarva akaratlan szereplői vagyunk a világot érintő és veszélyeztető problémáknak... Straub F. Brunó akadémikus a hatvanas évek végén az Eötvös Loránd Tudományegyetemen így kezdte előadását: „Ma a totális háborút ABC háborúnak nevezik. A: *atomical*, B: *biological*, C: *chemical*. Atom- és kémiai fegyverekkel a Varsói Szerződés államai is rendelkeznek. A biológiai háborúra azonban teljességgel felkészületlenek vagyunk.” A helyzet azóta sem sokat változott. Bár létrejött 1976-ban a Szegedi Biológiai Központ, amely azóta is a molekuláris biológiai kutatások fellegvára hazánkban, a hazai biológiai kutatások támogatása később sajnos megtorpant. Ezzel nem azt kívánom sugallni, hogy biológiai fegyvereket kell gyártanunk, hanem azt, hogy tudományos alapon fel kell készülnünk arra, hogy ki tudjuk védeni a biológiai fegyvergyártásból fakadó visszaéléseket.



A könyv minden fejezete nyomatékosítja, hogy a biológiai fegyvergyártás aránytalanul nagyobb veszélyt jelent az emberiség számára, mint amekkora hasznot hozhat finanszírozóinak. Sajátos ellentmondás, hogy míg a biológiai fegyvergyártás teljes mértékben biológiai kutatásra épül, eredményei a politikának vannak alárendelve: a fegyvergyártás nem a biológusok, hanem egyes politikai és pénzügyi csoportok érdeke. A könyv egy biológiai fegyvergyártásban vezető szerepet betöltő kutató – egy „tékozló fiú” – őszinte vallomása arról, hogy miként szegte meg a Szovjetunió „A biológiai és vegyi fegyverek használatának kizárásáról” szóló 1972. évi nemzetközi konvenciót. Nyilván nem ez az állam az egyedüli fekete bárány – s ez kiderül a könyvből is – az aláíró 140 állam sorában. Ezért nem csupán egy állam elmarasztalásáról van szó, hanem egy sokkal lényegibb kérdésről: mennyire Janus-arcúak a nemzetközi szerződések, mennyire bízhatunk meg bennük? Az aktuális téma esetén az emberi civilizáció biztonsága a tét. S maga a kutató esete is tanmesébe illő:

miként használják ki a tehetséges, de karriervágyó kutatók tudását azok a politikusok, akik nem tudják, de főleg nem akarják felmérni döntéseik veszélyességét.

Napjainkban a bakteriológiai és vegyi fegyverek fejlesztése és bevetésének veszélye aktuálisabb, mint hinnénk. A *Biohalál* bemutatja, milyen háborúkban alkalmaztak bakteriológiai és vegyi fegyvereket, mely helyeken folyt kutatásuk és előállításuk. Szól titokzatos balesetekről, gyilkosságokról, kutatók eltüntetéséről, rémisztő környezeti katasztrófákról és fejlesztési hibákról. Közben megismerkedhetünk mindazon betegségek tüneteivel és járványszerű terjedésének hatásaival, melyekre a fejlesztések irányultak: a fekete himlő, a tularaemia, a szalmonella, a legionárus betegség, a pestis, a pszeudotuberkulózis, a lépfene, a venezuelai ló agyvelőgyulladás (VEE), a Q-láz, a takonykór, a Marburg-, az Ebola-, az AIDS- és egyéb vírusok okozta tünetekkel. Ezeknek a fejlesztéseknek nem csupán az a céljuk, hogy a szupertiszta biológiai készítmények hatékonyan bevethetők legyenek biológiai fegyverként, de komoly erőfeszítések folynak olyan antibiotikumrezisztens törzsek előállítására, melyeknek nincs ellenszere. Ennek elérésére kiváló lehetőséget nyújt a géntechnológia. A genom megváltoztatásával ugyanis akár multiantibiotikumrezisztens törzsek is előállíthatók. A könyv ráébredt, hogy felesleges többé azzal áltatnunk magunkat, hogy a bakteriológiai és géntechnológiai fejlesztések veszélyeit felfűjják.

A könyv lapjain tallózva megtudhatjuk, milyen régi hagyományai vannak a biológiai fegyverek használatának. A rómaiak a pestis elterjesztésére kutakat mérgeztek meg, a gyarmatosítás során az angolok himlővel átítatott takarót „ajándékoztak” az indiánoknak. Az I. világháborúban a németek takonykórfejtővetet be a román lovasság ellen. A II. világháborúban a japánok porcelánbombákban pestissel fertőzött bolhákat dobtak le Mandzsúria földjére. A szovjet Forradalmi Katonai Tanács első ízben 1928-ban adott ki titkos rendeletet a kiütéses tífusz fegyverként való felhasználására, annak ellenére, hogy három évvel korábban Genfben nemzetközi szerződést írtak alá a mérgegáz- és baktériumfegyverek betiltásáról. A kiütéses tífusz estében a fertőzöttek 40 százaléka pusztul bele a hetekig tartó szenvedésbe. Az 1930-as évek derekára a Szoloveckij-sziget (a későbbi

Gulág-szigetecsoport) vált a tífusz, a Q-láz, a takonykór és a melioidosis kutatóbázisává. A laboratóriumokat felépítő rabok egy része később a kísérletek résztvevőjévé vált. A II. világháborúban bevett tularaemia egész hadosztályokat tett ártalmatlanná. A hetekig tartó hideglelést, hányingert, fejfájást és lázt a betegek egyharmada nem élte túl. Az 1942-es sztálingrádi, több mint százezres tularaemiás járvány is minden valószínűség szerint tudatos biológiai fegyver bevetése miatt következett be. Az Aral-tó környezeti katasztrófája – melyet az 1960-as évek vízelvezetése indított el –, majd kiszáradása révén jelentősen hozzájárult a térségben kialakuló járványokhoz, többek között az 1970–80-as évek közötti nagyarányú pestismegbetegedésekhez. Az Aral-tó elsivatagosodott „Megújhadászigetén” számos vírus- és baktériumtörzs (pl. HIV- és himlővírusok) tanulmányozása folyt kísérleti majmokon. A térség hírhedt volt közegészségügyi botrányairól. 1989-ben a Kaszpi-tó északi részén lévő Elisztában 250 gyerek vált HIV-pozitívra a nem steril fecskendők használatától. A Megújhadászigeten 1992-ig tartott a szabadtéri kísérletezés. A hidegháború felszálló ágában, 1973-ban hozták létre Szovjetunióban azt a *Biopreparát* nevű intézetet, melyben kutatóként dolgozott a könyv írója. A Brezsnyev titkos rendeletére indított enzimprogram célja a meglévő biológiai fegyverek tökéletesítése és olyan, genetikailag megváltoztatott, oltóanyagoknak ellenálló kórokozók létrehozása volt, amelyek bevethetőkké válnak az interkontinentális hadviselésben. Itt vizsgálták a tularaemia, a pestis, a lépfene, a takonykór fegyverre alakítását, és egyéb kórokozók, mint a himlő, a Marburg-, az Ebola-, a Machupo-, a Junin- és a VEE-vírusok virulenciájának fokozását. 1979-ben Szverdlovskban, a Szovjetunió egyik kísérleti intézetében kitört lépfenefertőzésben 66-an haltak meg. A fertőzés az esetek 90 százalékában halálos kimenetelű.

A szerző állítása szerint az 1980-as évektől a Szovjetunió több mint 30 katonai és kutatóintézetében folyt biológiai fegyverek gyártása, melyeknek földrajzi elhelyezkedését térképen is szemlélteti. Megismerkedhetünk a legnagyobb projektekkel, mint az obolenszki Mágylia-programmal vagy a Metol programmal. A programok célja emberi testben toxikus vegyületeket előállítani patogén, antibiotikumrezisztens, génmanipulált kórokozók segítségével. Egyik nagy sikerük volt, hogy gén-

technológiai úton sikerült mielinmérgeket előállító géneket reprodukálni és bevinni a *Yersinia pestis* baktériumba. E baktérium okozta pestis „fekete halál” néven vált hírhedtté a középkorban, kiirtva Európa lakosságának egynegyedét.

A könyvből értesülést szerezhetünk a kikísérletezett szerek „biztonságos” forgalmazásáról. A moszkvai Szeverin Elmegyógyintézet „Fuvola” programjában kifejlesztett neurotrop és pszichotrop hatású anyagokból a magánpiacra is jutott. A KGB e szerek segítségével tüntette el a politikailag nemkívánatos személyeket.

A Szovjetunióban évekig szerveztek géntechnológiai és molekuláris biológiai tanfolyamokat iráni, iraki és indiai tudósok számára. A könyv utal az iraki, indiai hadviselési programokra. A szövetségi államok szétesése után a kutatók a rosszul fizetett orosz laboratóriumokból az egész világra szétszóledtek, s eladták tudásukat. Egyes bűnöző kormányok és hatékony terrorista csoportok kezében mára már a biológiai fegyverek egész arzenálja van.

1995-ig legkevesebb 17 ország rendelkezett biológiai fegyverekkel. A múltban törvényesen lehetett és napjainkban is szabad kereskedni baktériumokkal és vírusokkal. A biotechnológiai kereskedelmi vállalatok a nyílt ellenőrzés ellen tiltakoznak, mondván, hogy védtelenné válnának az ipari kémkedéssel szemben. Ugyanakkor egyes, biológiai fegyver használatára kész államok kényük-kedvük szerint játsszák ki a nemzetközi tiltó rendszabályokat.

Miért fontos erre odafigyelni? A minap (2001. június vége) hírt kaptunk arról, hogy állítólag kullancs által terjesztett krími-kongói vérzéses láz ütötte fel a fejét Koszovóban. A fertőzésbe a betegek 30 százaléka belehal, s nincs ellene hatásos védőoltás. A kullancsra sokféle betegség terjesztése ráfogható. Nyilván a közegészségügyi helyzet is csapnivaló a háborús tűzfészek táján. De vérzéses lázat, mint amelyet akár az Ebola- vagy Marburg-vírus is előidézhet, idáig e térségben sosem tapasztal-

táltak. Ezért nem zárható ki a biológiai fegyver szándékos bevetése sem. A biológiai támadást nem könnyű felismerni, nem tudni mikor, ki, mit permetezett a légtérbe. Könnyen megeshet, hogy csak napokkal vagy hetekkel a támadás után, az első halálesethullámot követően ébredünk rá a keserű valóságra. Már minimális mennyiségű hatékony infektív vírus (pl. Marburg- vagy Ebola-vírus) kibocsátása mondjuk egy metróhálózatba, sok százezer áldozatot követelne.

Tudjuk jól, hogy a tudományos felfedezések emberiségellenes felhasználása – így a biológiai fegyverek bevetése is – egész fajunkat, civilizációunkat katasztrófába sodorhatja. A géntechnológiával karöltve a biológiai fegyverek okozta pusztítás alattomosá, kinyomozhatatlanná válik. A halál bárhol leselkedhet ránk, s nem tudni hol, mikor és kikre sújt le a biológiai fegyvereket gyártató hadviselés vagy a fegyvert birtokló maffiák kezétől. E láthatatlan kórokozókkel biztos csatát lehet nyerni, de csak pillanatokra. Ennek a rövid távú sikernek a záloga a jövő kiszolgáltatottsága és bizonytalansága. A biológiai fegyverek nem válogatnak ellenség és barát között. Az általában a repülőgépekről leszórt ágens a légfuvallatokkal tág területekre sodródhat, így a fertőzés észrevétlenül is eljuthat a lakossághoz. A kis térfogatra összepréselt, kellőképpen virulens törzsek nagyvárosokat pusztíthatnak ki. Sőt azzal is szembe kell néznünk, hogy bármelyik hatásos, ellenszer nélküli kórokozó világméretű járványként söpörhet végig a földgolyón.

A nukleáris fegyverkezés a múlté. A biológiai fegyverkezés a jelen tragédiája. Szembesülnünk kell vele és fáradozni megfékezésén, ellenőrizhetőségén. Az első világháborút a gépi fegyverek döntötték el, a másodikat a nukleáris fegyverek, a következőt...

„...Vétkesek közt cinkos, aki néma...” (*Babits Mihály*)

Pethő Ágnes



Veress Pál 1920-ban született és 1999-ben hunyt el Budapesten. 1943-ban Szőnyi István tanítványként végzett a Képzőművészeti Főiskolán, de emellett a Pázmány Péter Tudományegyetem bölcsészkarán is tanult. Dinamikus pályakezdet után, 1948-ban kultúrpolitikai okból bő egy évtizedre kivonul a „nyilvános” művészetből: a politika vezérelte szocialista realizmus időszakában inkább az önkéntes száműzetést választja. 1947–48-ban Kassák Lajos főszerkesztése alatt az *Alkotás* folyóirat segédszerkesztője; később fordító-újságíróként, szerkesztőként tevékenykedik, ám eközben tovább fest, párhuzamosan kísérletezik figuratív képeivel és jellegzetes bálványalakjaival, s a hatvanas évekre, amikor újra megjelenik a művészeti életben, kialakítja sajátos formavilágát. Nagyszámú hazai kiállítása mellett egyebek között Genovában, Párizsban, New Yorkban (utóbbi Bálint Endrével és Papp Oszkárral közösen) is számos tárlata volt. A Széchenyi Irodalmi és Művészeti Akadémia rendes tagja (1992), kitüntetései: a Magyar Köztársaság Érdemrend Kiskeresztje (1995), a Magyar Köztársaság Érdemes Művésze (1998).



Veress Pál, Rózsaszín bálvány (1972), fanyomat-kollázs

nem szokványos festői technikái: salakképek, uszadékfát, hánccsot vagy farostlemezt használva készült fa-táblanyomatok, monotípiák, fanyomat-kollázsok, melyek révén a vásznáról, tábláról hol mélyen emberi (asszonyi), hol pedig idegen, mégis zavarba ejtően e világi, élőszoet-konzisztenciájú lények, saját magunk bálványlenyomatai néznek vissza ránk. Orbán Ottó róla írott szavaival: „...Valódi szükségben és szorongatásban az életosztón elemi működése kell ahhoz, hogy valaki, miközben menteni próbálja a menthetőt, az ellentmondások ilyen szövevényébe keveredjék; hogy jellé könnyebbült emberalakja bálványként megjelenítve súlyosan testes legyen; hogy a körvonal és a felület kétségbe vonva gazdagítsa egymást; hogy a kőszerűen rideg formának fához illően eleven erezete támadjon; hogy táblaképe reliefként viselkedjék; hogy festői minőségben nyíltan kimerészkedjék a térbe...”

Drámai hatású képein hol absztrakt emberalakokat, hol archetipikus látomásokra, kultikus totemekre, mitológiaiakból kilépett, természetfeletti lényekre vagy ezek maszkjaira emlékeztető, növényi, állati és emberi tulajdonságokat egyaránt mutató teremtményeket, lidérceket, bálványokat ábrázol. Egyszerre játszik és viaskodik néha esendő, néha könnyed, leginkább mégis nyomasztó erejű bálványai-val. A láttatás drámaiságát különösen hatékonyan szolgálják egyé-

Veress Pál: fametszetek a „Kreatúrák” sorozatból (1985)



Lépő alak



Álló alak



Turulfióka