

A FERMENTEK KÉMIAI SZERKEZETE ÉS BIOLÓGIAI FUNKCIÓJA KÖZÖTTI KAPCSOLAT NÉHÁNY KÉRDÉSÉRŐL

SZÖRÉNYI IMRE akadémikus

A fermentek kémiai szerkezete és funkciói közötti kapcsolat és kölcsönhatás kérdéséről lényegében még ma is aránylag keveset tudunk, pedig ezen kérdés különösen fontos, az élet lényegének megértése szempontjából.

A régi klasszikus organikus kémia vizsgáló módszerei egyáltalán nem voltak kielégítőek nemcsak a kérdés megoldására, de annak még a felvetésére sem. Éppen ezért a múlt évtizedben egész sereg új, a réginél pontosabb és hatásosabb vizsgáló módszer látott napvilágot, amelyek száma ma is egyre szaporodik és tökéletesedik.

Utoljára, valamivel több mint két évvel ezelőtt igyekeztem beszámolni az elméleti fehérjekutatás néhány időszerű kérdéséről, különös tekintettel a vezetésem alatt álló intézetben folytatott munkára [96]. Most folytatni szeretném a beszámolót az utóbbi két év alatt végzett munkáról.

Még nem is olyan régen a fehérjemolekulát az aktív koferment vagy proszretikus csoport inert hordozójának tekintették. Világos, hogy ez a nézet ma már tarthatatlan, s aligha vitatható a fehérje specifikus szerepe.

A fehérjemolekula felépítése bonyolult, labilis és felületi szerkezete változékony. Ezért vizsgálata nem könnyű feladat. A százalékos aminosav összetétel önmagában éppoly keveset mond, mint a brutto képlet a szerves kémiában.

Az aminosav szekvencia felderítése ma még igen nehéz, és csak bizonyos körülmények szerencsés találkozása esetén sikerül. Mindmáig csupán két fehérje esetében oldották meg. Makromolekuláról lévén szó, azonban, még a szekvencia teljes és pontos ismerete sem elegendő a szerkezet és funkció kapcsolatának feltárásához.

Az esetek döntő többségében a polipeptidlánc felhasítása együtt jár a biológiai funkció megszűnésével, de még ennél lényegesen enyhébb — denaturáló — behatások is, melyek csupán a térbeli szerkezetet változtatják meg, hasonló eredménnyel járnak.

Mindezek alapján az a nézet alakult ki, hogy a fehérjemolekula intakt egésze szükséges a biológiai aktivitás kifejtéséhez.

Az utóbbi évek kutatásainak eredményeként azonban ismeretessé vált, hogy számos fehérjéről lehasíthatók aminosavak, illetve kisebb-nagyobb frag-

mentumok, megbonthatók egyéb kovalens kötések (pl. S—S hidak) anélkül, hogy az aktivitás károsodnék. Ennek alapján feltételezik, hogy a fehérje szerkezetének csak egy része, — az ún. aktív centrum — szükséges az aktivitás kifejtéséhez.

Ha ez igaz, a következő kérdéseket kell feltennünk :

Először : milyen strukturális elemekre vezethető vissza a fehérje specifikus, katalitikus hatása,

másodszor : milyen e strukturális elemek helyzete a fehérjemolekulában és

harmadszor : mi a kapcsolat az aktivitást kifejtő terület és a fehérje egésze között. Más szóval ez utóbbi kérdést úgy is megfogalmazhatjuk, hogy mi a szerepe a fehérje azon részének, mely nem függ össze az aktivitással.

Az eddig összegyűlt, a szerkezet és funkció kapcsolatával foglalkozó anyag tekintélyes, de nem rendszeres. Egyes, főleg kiragadott reaktív csoportok összehasonlító vizsgálatáról közöltek eredményeket [2, 73]. Mi úgy véltük, sokféle modell kiragadott elemeinek vizsgálata nem vezet közelebb bennünket a kérdés lényegéhez, hanem helyesebb egy fehérjetípus többoldalú vizsgálatával közelíteni a problémához.

Két irányból igyekeztünk a célunkhoz közelebb jutni ; *egyrésztől* azonos funkciójú, de különböző eredetű fehérjéket — terminológiánk szerint homológ fehérjéket — hasonlítottunk össze. E vizsgálatokkal igyekeztünk megállapítani, hogy esetleges különbségek közül, melyek vezethetők vissza funkcionális sajátságokra és melyek magyarázhatók az adott fehérje biológiai eredetével. *Másrésztől* nem azonos, de hasonló működésű fermenteket hasonlítottunk össze. Célunk, megállapítani azon közös szerkezeti elemeket, melyek a működés szempontjából döntő fontosságúak. Ezért választottuk vizsgálataink tárgyává a sok tekintetben egymáshoz közelálló két enzimet, a foszfogluceraldehid-dehidrogenázt és az alkoholdehidrogenázt.

Míg mások munkái elsősorban kémiai, vagy elsősorban funkcionális sajátságok vizsgálatára épültek fel [82], mi igyekeztünk a két kérdést egy-egyben tanulmányozni.

Eddigi munkánk során a következő szempontokból igyekeztünk megközelíteni a szerkezet és funkció összefüggésének kérdését :

Először : összehasonlítottuk a homológ fehérjék kémiai, fiziko-kémiai, immunbiológiai és enzimológiai sajátságait,

másodszor : vizsgáltuk a katalitikus folyamatban résztvevő egyes szerkezeti elemek szerepét és

harmadszor : vizsgáltuk ugyanezen elemek szerepét a fehérjék natív szerkezetének kialakításában.

Mielőtt az eredmények részletes ismertetésére rátérek, szeretnék foglalkozni a vizsgált fehérjék izolálásának és kristályosításának néhány problémájával.

Összehasonlító fehérjebiokémiai vizsgálatok során az eredmények értékelését jelentősen befolyásolhatja az a körülmény, hogy milyen eljárással jutottunk a vizsgálati objektumokhoz. A vizsgálatok érdekében arra kell törekednünk, hogy az eljárások minél egyszerűbbek legyenek és minél kevesebb olyan lépést tartalmazzanak, melyek a fehérjék sajátosságait befolyásolhatják, illetve megváltoztathatják.

Ezt az elvet tartottuk szem előtt még Kievdn megkezdett munkánk során [97, 98], ezért igyekeztünk olyan módszereket kidolgozni, melyek segítségével gyorsan és kiméletesen juthatunk el tiszta készítményekhez.

Eljárásunk lényege az, hogy egy lépésben juthatunk olyan fermenthez, mely a szokásos aktiváló anyagok alkalmazása nélkül is gyakorlatilag teljesen aktív. Ezzel a módszerrel sikerült foszfogliceraldehid dehidrogenázt kilenc fajtából: nyúl, disznó, marha, kutya, macska [32, 99] folyami és kecskerák izomból [100], szesz- és sörélesztőből [56] izolálni.

Fokozottabban érvényes az előbbi elv az alkoholdehidrogenázra. A fermentet általában szárított élesztőből izolálják [71, 77, 122]. Aligha vitatható, hogy a szárítás nem hat előnyösen a fehérjék tulajdonságaira. Erre irodalmi adatok is utalnak, melyek szerint az alkoholdehidrogenáz aránylag labilis ferment. KELETI több módosító eljárása [51, 52] után végül is ELŐDINEK és KELETINEK [56] sikerült olyan eljárását kidolgoznia, melyek segítségével friss szesz- és sörélesztőből lehet jobb kitermeléssel, magasabb aktivitású alkoholdehidrogenázt izolálni.

Az izolálás következő kérdése a kristályosítás.

Fehérjekristálynak a természetben való előfordulása kuriózum számba vehető, sőt a fehérje kristály, mint biológiai fogalom vitatható is. Számunkra nem is mint biológiailag létező vagy nem létező fontos, hanem mint a készítmény tisztaságának, natív tulajdonságai megőrzésének egy biztosítéka.

Foszfogliceraldehid-dehidrogenázok esetében a kristályformák kialakulása, mint azt DÉVÉNYI, SAJGÓ és SZÖRÉNYINÉ [16, 19, 24, 25] adatai mutatják, az SH csoportok állapotával áll összefüggésben és a közeg redox-potenciáljával is befolyásolható.

Alkoholdehidrogenázok esetében a kristályosítás körülményeitől függetlenül mindig azonos forma nyerhető [52].

A homogenitás és a kristályos állapot mai ismereteink alapján nem feltétlenül minden esetben jár együtt. A homogenitásról kísérletesen, több oldalról is igyekeztünk meggyőződni.

A homogenitás vizsgálatát összekapcsoltuk a különböző fajokból izolált enzimek fizikai-kémiai állandóinak összehasonlításával.

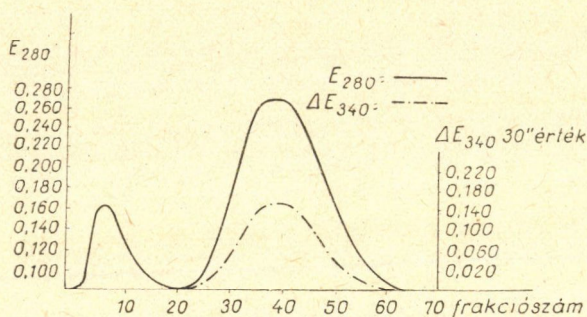
Előre kell bocsátanom, hogy a fehérje homogenitás klasszikus definíciója az elektromos és centrifugális térben való egységes mozgás, ma már meglehetősen idejét múlta, de legalábbis nem kielégítő. Igen nagy azon fehérjék száma,

melyek az előbbi módszerekkel egységesnek mutatkoznak, a modernebb eljárások segítségével azonban több komponensre bonthatók.

ELŐDI és KELETI vizsgálta a foszfogliceraldehid dehidrogenáz és alkoholdehidrogenáz készítményeink homogenitását elektroforézis, szedimentáció, oldékonyság és immunbiológiai, valamint szerológiai módszerekkel [4, 5, 23, 26, 27, 28, 32, 50, 51, 99, 100]. Vizsgálataik alapján a készítmények homogéneknek mutatkoztak.

Papírelektroforézissel végzett vizsgálataink a fentieket megerősítették [80].

Jelentős eredmény az, hogy BOROSS, SAJGÓ, DÉVÉNYI [9] a közelmúltban kidolgozták a foszfogliceraldehid-dehidrogenáz ioncserés kromatográfiáját.



I. ábra. Foszfogliceraldehid-dehidrogenáz kromatográfiája Amberlit IRC—50 oszlopon
 ————— fehérjetartalom
 - - - - - az egyes frakciók enzimatis aktivitása

Ez az eljárás mai ismereteink alapján legalkalmasabb fehérjék mikroheterogenitásának kimutatására.

A kísérletek azt mutatják, hogy a foszfogliceraldehid dehidrogenáz Amberlit IRC-50 oszlopon kromatografálva, az előbb ismertetett eljárások eredményével egybehangzóan ugyancsak homogének bizonyult (I. ábra).

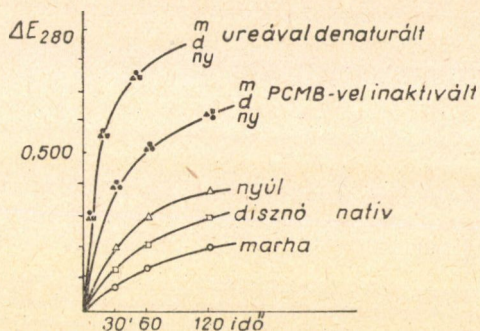
A kihúzott vonalú görbe az egyes frakciók 280 m μ -nál mért abszorpcióját tünteti fel. Mint látható, két frakció különíthető el: az első fehérjét nem tartalmaz és abszorpciós görbéje alapján difoszfopiridinnukleotidának felel meg. A kromatográfia során tehát a kötött koferment lehasadt a foszfogliceraldehid dehidrogenázról. Igen lényeges, hogy a fehérje frakció, vagyis a második komponens egységes és az alkalmazott körülmények mellett enzimatis aktivitását teljes mértékben megtartja (I. ábra pontozott görbe). Megjegyezzük, hogy előbbivel azonos kísérleti körülmények között, sikerült izomkivonatból közvetlenül is egységes, aktív enzimet nyernünk.

1. Homológ fehérjék összehasonlító vizsgálata

Munkánk során részletesebben vizsgáltuk a különböző fajokból származó azonos enzimeket, összehasonlító szempontból.

KELETI [49—51] az alkoholdehidrogenázokat hasonlította össze. Adatai szerint a két élesztő alkoholdehidrogenáz több tekintetben különbözik egymástól. Más a fermentek átviteli száma, gátló anyagokkal szemben mutatott érzékenyséjük, izoelektromos pontjuk, tirozin és triptofán tartalmuk. ANTONI és KELETI [4, 5] vizsgálatai szerint immunológiai szempontból *kvalitatív* ugyan nem különböznek, de eltérés tapasztalható a *kvantitatív* precipitáció módszerével, és a LANDSTEINER-féle oldékonyági teszt alapján már különböző fehérjéknek tekinthetők.

ELŐDI [32, 99, 100] vizsgálataiból kitűnik, hogy lényegesen különböznek egymástól az emlős, a rák és az élesztő foszfogliceraldehid-dehidrogenázok.



2. ábra. Különböző emlőszizomból izolált negatív, p-klórmerkuribenzoáttal inaktívált és ureával denaturált foszfogliceraldehid-dehidrogenázok emészthetőségének összehasonlítása

Az ordináta a 6,6%-os triklórecetsavval fehérjementesített emésztési elegy extinkciójának növekedését tünteti fel 280 mμ-nál.

○ ● marha; □ ■ disznó; △ ▲ nyúlizom foszfogliceraldehid-dehidrogenáz

Ezek átviteli számai lényegesen eltérnek, a reaktív SH csoportok száma és a koferment megkötőképesség különböző. Az emlőszizomból nyert foszfogliceraldehid-dehidrogenáz és a rákizomból izolált foszfogliceraldehid-dehidrogenázok oldódnak egymás telített oldatában [27]. Érdekes azonban, hogy a marha, disznó, nyúl, kutya, macska — vagyis az emlőszizomból nyert foszfogliceraldehid-dehidrogenázok a vizsgált enzimológiai, kémiai és immunológiai tulajdonságok alapján *minden tekintetben* megegyeznek egymással [10, 23, 26—28, 32, 99].

Feltételeztük azonban, hogy az emlőszizomból nyert foszfogliceraldehid-dehidrogenázok esetében esetleg olyan eltérések is lehetnek, melyeket az eddig alkalmazott eljárásokkal kimutatni nem lehet.

Valóban, a homológ fehérjék proteolitikus lebonthatóságának tanulmányozása alapján megállapítottuk, hogy a vizsgált emlőszizomból nyert

foszfogliceraldehid-dehidrogenázok között is jól definiálható különbségek vannak. Mint SZABOLCSINÉ és BISZKU [87, 90, 92] vizsgálataiból kitűnik, a natív homológ fehérjék tripszin hatására különböző sebességgel épülnek le (2. ábra).

Mint az ábrából látható, natív foszfogliceraldehid-dehidrogenázok esetében az emészthetőség csökkenő sorrendje: nyúl-, disznó-, marhaizomból izolált enzim. Meg kell jegyezni, hogy újabb vizsgálataink szerint a sorrend független attól, hogy a proteolitikus enzim milyen fajból származik. Igen lényeges viszont, hogy az inaktivált, vagy denaturált foszfogliceraldehid-dehidrogenázok emészthetőségének sebessége már független az adott fehérjék eredetétől. Ez azt jelenti, hogy a tripszin hatására érzékeny peptidkötések azonosak a három enzimben. Az emészthetőségben észlelt eltérést csak a *natív fehérjék* térszerkezetének különbözősége okozhatja.

DÉVÉNYI, SAJGÓ és SZÖRÉNYINÉ [18–20] megállapították, hogy az emlőszizomból nyert foszfogliceraldehid-dehidrogenáz *nem* rendelkezik szabad végesoportokkal, következésképpen ciklikus szerkezetű.

Összegezve az előbbieket, arra a következtetésre jutottunk [100], hogy a foszfogliceraldehid-dehidrogenázok esetében a klasszikus módszerekkel csak nagyobb rendszertani kategóriák között tapasztalhatók eltérések, és a kategóriákon belül inkább a hasonlóság dominál. Az emlőszizomból nyert foszfogliceraldehid-dehidrogenázok között eddig csak egy újszerű módszerrel — a proteolízis alkalmazásával — sikerült különbségeket kimutatni.

Alkoholdehidrogenázok esetében már két közeli élesztőfajból izolált enzimek sajátosságai között is kimutathatók különbségek.

2. A foszfogliceraldehid-dehidrogenáz hatásmechanizmusának vizsgálata

Míg az alkoholdehidrogenáz által katalizált folyamat viszonylag egyszerű, hiszen jól definiált redox folyamatról van szó, melyben a difosztopiridinnukleotida hidrogén akceptorként szerepel, addig a foszfogliceraldehid-dehidrogenáz működésének problémája sokkal bonyolultabb.

Már idestova hús évé, hogy WARBURG és CHRISTIAN [126] izolálták a fermentet és vizsgálták a ferment által katalizált folyamat mechanizmusát. A folyamat tulajdonképpen két részreakcióból áll: a foszfogliceraldehid oxidációjából és egy foszforilálási reakcióból, minthogy a reakció végén 3-foszfogliceraldehidből végeredményben 1–3 difoszfoglicerinsav képződik.

Warburg álláspontja az volt, hogy a foszfogliceraldehid először foszforilálódik, majd a difoszfovegyületből képződik az 1–3 difoszfoglicerinsav [69, 70, 125, 126, 128]. Az idők folyamán ezt az elképzelést többen támadták. MEYERHOF, RACKER, KRIMSKY, VELICK és mások [22, 48, 59, 61, 66, 67, 72, 78, 79, 81, 115–118] különböző experimentális adatok és elméleti megfontolások alapján kétségbevonták a WARBURG iskola álláspontját.

A kérdés egyértelmű felderítését megnehezítette az, hogy időközben megállapították, hogy a foszfogliceraldehid-dehidrogenáz egy sereg reakciót képes katalizálni [116], így pl :

- a) működhet mint tranzacetiláz [38–40],
- b) képes acetilfoszfátot hidrolizálni, vagy foszfát csoportját arzenátra kicserélni [38–40],
- c) katalizálhatja az acetilfoszfát foszfát csoportjának kicserélődését jelzett foszfátra [38–40],
- d) redukált difoszfopiridinnukleotidából egy ismeretlen természetű vegyületet képezhet [13, 60, 65, 75, 76], végül pedig
- e) a citokróm rendszerrel kapcsolva diaforázszerű hatást fejthet ki [64].

A ferment működésének *mechanizmusa* tehát igen bonyolult és sokrétű.

Az újabb vizsgálatok végeredményben mindmáig sem döntötték el az eredetileg felvetett kérdést, vagyis azt, hogy a foszforiláció vagy oxidáció az első lépés.

Az utóbbi évek számos vizsgálata inkább annak elfogadása mellett szól, hogy az oxidáció megelőzi a foszforilációt.

Az első pillantásra sokfélenek látszó reakciók *közös* alapja egy feltételezett *acilenzimkomplex képződése*. Az oxidatív foszforiláció, a tranzacetilálás, az arzenolízis folyamata végeredményben, ha nem is azonos, de igen hasonló reakciónak tűnik akkor, ha feltételezzük, hogy a reakciók lényege tulajdonképpen egy aciláló folyamat [78].

WARBURG a számos meggyőző adat ellenére meglehetősen mereven ragaszkodik húsz évvel ezelőtti véleményéhez, amint azt a múlt évben megjelent rövid közleménye is bizonyítja [127].

Az intézetünkben végzett kísérletek sem magyarázhatók a Warburg iskola álláspontjával, hanem alátámasztják azt az elképzelést, hogy az oxidációs folyamat a reakció első lépése.

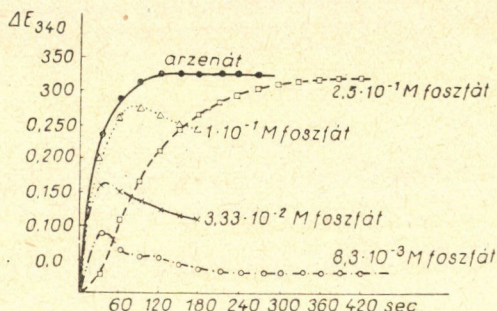
KELETI és TELEGDI [58] tanulmányozták a foszfát ion hatását a foszfogliceraldehid oxidációjára. Az eddigi néhány irodalmi adattal egybehangzóan [68, 94, 95] azt tapasztaltuk, hogy a foszfát ion az alkalmazott koncentrációtól függően két irányú hatást fejthet ki. Alacsony koncentrációban sebességmeghatározó faktor, hiszen szubsztrát szintén vesz részt a reakcióban. Nagyobb koncentrációban azonban gátló hatást fejt ki (3. ábra).

Az ábra a foszfogliceraldehid oxidációjának időbeli lefutását mutatja be különböző mennyiségű foszfát jelenlétében. Mint látható, eleinte a foszfát koncentráció növelésével emelkedik a reakció kezdeti sebessége. A keletkezett redukált difoszfopiridinnukleotida *mennyisége* viszonylag rövid ideig nő, azután csökken, és később elér egy konstans értéket.

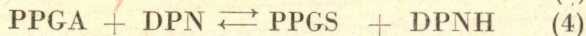
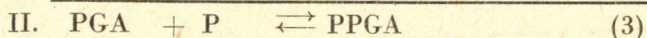
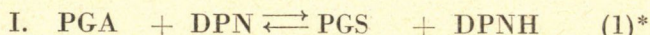
Magasabb foszfát koncentráció alkalmazása már gátolja a reakció kezdeti sebességét. Ilyenkor a redukált difoszfopiridinnukleotida *mennyisége* igen lassan, de folyamatosan növekszik.

Az előbbi megfigyelés reakciókinetikai meggondolások alapján csak annak feltételezésével magyarázható meg, hogy itt két folyamat játszódik le, melyek közül az egyik csak később indult meg. Bizonyos körülmények között ez eltolhatja az első reakció egyensúlyát az ellenkező irányba.

Mint már említettem, a foszfoglicerinaldehid-dehidrogenáz által katalizált reakciónál valóban két folyamat játszódik le. Térjünk tehát vissza az irodalomban vitatott, kétféle lehetséges reakció-mechanizmusra.



3. ábra. Szeszélesztőből izolált foszfoglicerinaldehid-dehidrogenáz által katalizált foszfoglicerinaldehid oxidáció különböző mennyiségű fosztát ion jelenlétében



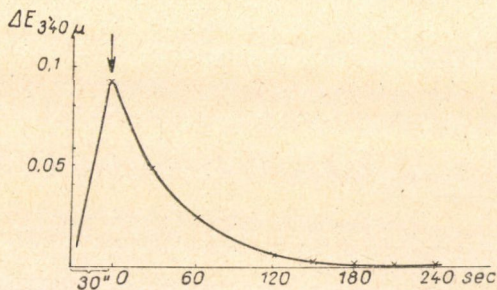
Mindkét mechanizmus két-két részfolyamatból áll. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy bármelyik típusból az első reakció indul meg először, [1] vagy [3]. Tételezzük fel, hogy az I. típus szerint megy végbe az enzimátikus folyamat. Ebben az esetben ha a reakciót a kezdeti szakaszában leállítjuk és friss enzimet, valamint felesleg redukált difoszfopiridinnukleotidat adunk a reakcióelegyhez, akkor az első reakció egyensúlya balra tolódik el, mert redukálható szubsztrát: foszfoglicerinsav van jelen. Ebben az esetben a redukált difoszfopiridinnukleotida csökkenését kell tapasztalni.

Amennyiben a második típusú hipotézis helyes, nem észlelhetünk redukált difoszfopiridinnukleotida csökkenést, mivel a [3] reakció végterméke, — a difoszfoglicerinaldehid — nem redukálható.

* Rövidítések: PGA — foszfoglicerinaldehid; DPN — difoszfopiridinnukleotid; PGS — foszfoglicerinsav; DPNH — redukált DPN, PPGS — 1,3-difoszfoglicerinsav; PPGA — 1,3-difoszfoglicerinaldehid.

Elvégeztük tehát ezt a kísérletet (4. ábra).

Az ábra első részén látható a difoszfopiridinnukleotida redukciójának megfelelő extinkció növekedés a reakció első 30"-ében. A nyíllal jelölt időpontban az enzimet kicsaptuk, majd friss enzimet és főlőleg redukált difoszfopiridinnukleotidát juttattunk a reakcióegyhez. Látható, hogy a redukált difoszfopiridinnukleotida mennyisége csökken. Véleményünk szerint friss



4. ábra. A foszfoglicerinaldehid oxidáció mechanizmusának vizsgálata

Az eredeti reakcióegy megfelel az eddig alkalmazottaknak, arzenát helyett $1,67 \cdot 10^{-2}$ M foszfát ion alkalmazásával. A reakciót 30 mp. múlva leállítottuk, a fehérjét triklórecetsavval kicsapva. A csapadékot centrifugáltuk, felülúszót közömbösítettük, majd redukált difoszfopiridinnukleotidát adtunk hozzá feleslegben és friss glicerinaldehidfoszfát-dehidrogenázt, valamint arzenátot, a nyíl által jelölt időpontban

enzim hatására az egyben levő foszfoglicerinsav oxidálja a redukált difoszfopiridinnukleotidát.

Feltételezhetjük tehát, hogy az I. típusú hipotézis szerint megy végbe a foszfoglicerinaldehid oxidálása, vagyis az oxidáció időben megelőzi a foszforilációt.

Az SH csoportok szerepének néhány kérdése

A további munkánk során igyekeztünk feleletet kapni arra a kérdésre, hogy az enzimek egyes szerkezeti elemei milyen mértékben vesznek részt a kérdéses, katalizált folyamatban. Így részletesebben kívántuk tanulmányozni az SH csoportok szerepét az alkoholdehidrogenáz és a foszfoglicerinaldehid-dehidrogenáz működésében.

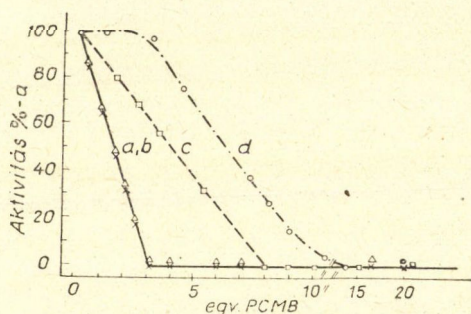
Régóta ismeretes, hogy egyes enzimek működését bizonyos anyagokkal gátolni lehet (nehézfém ionok, oxidáló és redukáló anyagok, az enzimek egy vagy több oldalláncával kapcsolódó anyagok stb.). A gátlási reakció tanulmányozása alapján kialakult az a vélemény, hogy az enzimeket felépítő aminosav maradékok (reaktív csoportok) némelyike elengedhetlenül szükséges az adott reakcióhoz, mások a katalizált reakció szempontjából közömbösek.

Néhány enzimről már régebben tudjuk, hogy pl. működésükhöz elengedhetlenül szükséges meghatározott szabad SH csoport. Hangsúlyoznunk kell,

hogy csak bizonyos számú SH csoportról van szó. Már ANSON és MIRSKY [3] klasszikus munkáiból ismeretes, hogy a fehérjék SH csoportjai nem egyenértékűek. Ezért BARRON [6] osztályozása alapján az irodalomban általában elfogadott az a nézet, hogy az SH csoportoknak *csak egy része* „esszenciális” az enzimatis reakcióban.

A foszfoglicerinaldehid-dehidrogenáz SH csoportjainak számát illetően az irodalmi adatok ugyan eltérőek, (a különböző szerzők 8–14 SH csoportot mutatnak ki) [11, 59, 74, 81], abban azonban megegyeznek, hogy az oxidatív foszforilálás folyamatában esszenciálisnak csak három tekinthető.

Az esszenciális SH csoportok szerepét illetően is megoszlanak a vélemények. Egyes szerzők szerint az SH csoportok hidrogénakceptor szerepét töltik be [7, 83, 124, 127]. RACKER és KRIMSKY, valamint VELICK [61, 78, 79, 115, 116] foszfoglicerinaldehid-dehidrogenázal, WALLENFELS, THEORELL, KAPLAN



5. ábra. p-klórmerkuribenzoát gátló hatása különböző aldehidek oxidációjára

- a) szubsztrát: gliceraldehid 1,5 $\mu\text{M/ml}$;
- b) szubsztrát: acetaldehid 3 $\mu\text{M/ml}$.
- c) szubsztrát: foszfoglicerinaldehid, részlegesen aktív foszfoglicerinaldehid-dehidrogenáz;
- d) szubsztrát: foszfoglicerinaldehid, teljesen aktív foszfoglicerinaldehid-dehidrogenáz

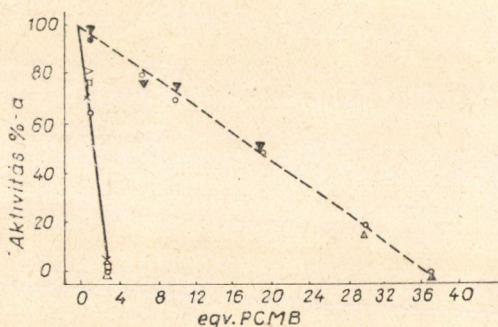
és mások [7, 33, 35, 102, 103, 121, 122] alkoholdehidrogenázal végzett kísérleteik alapján úgy vélik, hogy ezek a csoportok a szubsztrát, a koenzim, ill. valamely intermedier termék megkötésében játszanak szerepet. Minthogy az SH csoportok szerepét ezek blokkolásával, vagy oxidálásával — tehát a fehérje kémiai módosításával — vizsgálják, STRAUB [85], továbbá VELICK [116] és mások [47] szerint az elért eredmények nem bizonyították egyértelműen a csoportok közvetlen szerepét a katalizált folyamatokban. Szerintük lehetséges hogy a csoportok modifikálása következményeként a fehérje egy részének, vagy egészének megváltozhat szterikus konfigurációja, ami az aktivitás csökkenését vonja maga után.

Az irodalom áttekintéséből látható, hogy a foszfoglicerinaldehid-dehidrogenáz esszenciális SH csoportjainak vizsgálatát egy nem természetes szubsztráttal, a könnyebben vizsgálható gliceraldehiddel végezték. Minthogy az

enzim csoportspecifikus — a glikolízis során keletkező foszfogliceraldehidet kívül egyéb aldehidek (gliceraldehid, acetaldehid) oxidációját is katalizálja. — Úgy vélték, a szubsztrát minősége nem befolyásolja a reakció mechanizmusát. Ezt mi vitathatónak tartottuk.

SZABOLCSINÉ és ELŐDI [31, 87, 91, 101] kimutatták, hogy nemcsak a gliceraldehid, de az acetaldehid oxidációja is meggátolható kb. 3 ekv. p-klórmerkuribenzoáttal. A természetes szubsztrát, — a foszfogliceraldehid — oxidációjának a felfüggesztéséhez viszont az enzim valamennyi, azaz 13–14 SH csoportját blokkolnunk kell (5. ábra).

Meg kell jegyeznünk, hogy VELICK [115, 116] kimutatta, hogy 3 ekv.



6. ábra. Az SH csoportok blokkolásának hatása különböző alkoholok oxidációjára

- Egyenes C-láncú alkoholok :
 . Etilalkohol
 . Propilalkohol
 . Butilalkohol
 . Amilalkohol
 - - - Elágazó C-láncú alkoholok :
 . Izopropilalkohol
 . Izobutilalkohol

p-klórmerkuribenzoát hatására az enzimhez szorosan kötött difoszopiridinnucleotida is kvantitativ felszabadul.

Az alkoholdehidrogenáz SH csoportjainak szerepét részletesen ez ideig nem tanulmányozták. WALLENFELS és mások [1, 7, 21, 33, 121, 122] munkáiból csupán az enzim SH jellegére vonatkozó adatokat ismerünk. Éppen ezért igyekeztünk a kérdést mélyebben tanulmányozni.

KELETI [31, 54, 101] megállapította, hogy az egyenes és az elágazó szénláncú alkoholok oxidációjában más és más SH csoportok vesznek részt. Egy jellemző kísérletet mutat be a következő ábra (6. ábra).

Az ábrából kitűnik, hogy az egyenes szénláncú alkoholok (etil, propil, butilalkohol stb.) oxidációját 2–3 SH csoport lekötése teljesen gátolja. Ugyanakkor az elágazó szénláncú alkoholok oxidációja csak az enzim valamennyi — 36–40 — SH csoportjának blokkolásával érhető el.

Adataink tehát azt mutatják, hogy ezen enzimek esetében az SH csoportok valóban nem egyenértékűek. De nem abban az értelemben, hogy egyesek esszenciálisak, mások pedig nem esszenciálisak a katalízisben. Csoport-specifikus enzimek esetében, a szubsztrát minőségétől függően más és más SH csoportok vesznek részt a reakcióban. Foszfogliceraldehid-dehidrogenáz esetében úgy látszik a foszfáttal szubsztituált gliceraldehid az enzimnek más SH csoportjait tudja megközelíteni, mint az egyszerű gliceraldehid, v. az acetaldehid.

Alkoholdehidrogenáz esetében pedig a szénlánc szerkezete — egyenes vagy elágazó volta szerint az enzimnek más reaktív SH csoportjai vesznek részt a katalizált reakcióban.

Az enzim-koenzim-szubsztrát komplex vizsgálata

Az utóbbi években VALLEE és munkatársai [42—47, 86, 103, 104, 114, 120, 123, 129] valamint KELETI és TELEGGDI [49—51, 53, 55, 57] kimutatták, hogy mind a különböző objektumokból izolált alkoholdehidrogenázok, mind a foszfogliceraldehid-dehidrogenázok Zn-proteidek. Feltételezésük szerint az alkoholdehidrogenáz működésében a Zn-nek koenzim megkötő szerepe van.

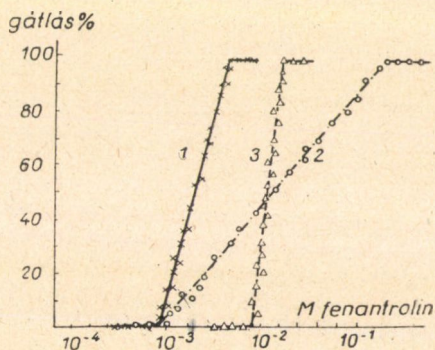
KELETI kimutatta, hogy a chelátképző fenantrolin csak az egyenes szénláncú alkoholok oxidációját gátolja. Az elágazó szénláncú alkoholok oxidációjára hatástalan. Ezek szerint a Zn csak az egyenes szénláncú alkoholok oxidációjának katalízisében vesz részt. Ha az egyenes szénláncú alkoholok oxidációját egy nem természetes koenzim — alloxán jelenlétében mértük, akkor azt tapasztaltuk, hogy SH gátló-szer a folyamatot nem befolyásolja. A fenantrolinnak ebben az esetben is gátló hatása van. Ebből tehát arra következtethetünk, hogy alkoholdehidrogenáz esetében az enzim SH csoportjai csak a természetes koenzim — a difoszfopiridinnukleotida — megkötésében vesznek részt és nem játszanak szerepet sem a hidrogén átvitelében, sem a szubsztrát megkötésében [53].

A foszfogliceraldehid-dehidrogenázzal végzett vizsgálatok során arra a következtetésre jutottunk, hogy valószínűleg a fehérjéhez kötött pozitív töltésű Zn-ion köti meg a foszfát aniont, és így biztosítja az enzimaktiváshoz szükséges foszfát v. arzenát ion térbeli közelítését a szubsztráthoz. KELETI és TELEGGDI [57] ugyanis kimutatta, hogy a foszfát ion védő hatást fejt ki fenantrolin gátlással szemben. Ezt mutatja be a következő ábra (7. ábra).

Mint látható, a foszfát ionnak mindkét esetben védő hatása van a fenantrolin gátlással szemben: a foszfogliceraldehid oxidációját a fenantrolin csak magasabb koncentrációnál kezdi gátolni, a gliceraldehid oxidációjánál pedig lassabban növekszik a gátlás mértéke a fenantrolin koncentráció növelésével.

Feltehető az a kérdés, hogy vajon csak a zink képes-e megkötni foszfátot. Valószínű, hogy magas foszfát koncentráció alkalmazása esetén, a zink ionok telítése után, a fehérje más pozitív töltésű helyei is megköthetnek foszfátot.

Ilyenek lehetnek az imidazel gyűrűk N-je, diaminosavak szabad NH_2 csoportjai stb. Lehetséges, hogy ezért fejt ki a magasabb foszfát koncentráció gátló hatást. Minthogy vizsgálataink során [58] a gátlás kompetitívnek bizonyult a szubsztráttal, feltehető, hogy a szubsztrát ezen helyek valamelyikén kapcsolódhat az enzimhez. Már STADTMAN [84], SZEVERIN [68, 94] és mások [59] is feltételezték, hogy a foszfogliceraldehid esetleg imidazolgyűrű nitrogén-



7. ábra. A foszfát ion védő hatása a gliceraldehidfoszfát-dehidrogenáz fenantrolinnal való gátlásával szemben

- 1-es görbe: foszfogliceraldehid és gliceraldehid oxidációjának gátlása fenantrolinnal — arsenát ion jelenlétében
 2-es görbe: foszfogliceraldehid
 3-as görbe: gliceraldehid oxidációjának gátlása fenantrolinnal — foszfát ion jelenlétében

jén keresztül kapcsolódik az enzimhez. Ezzel kapcsolatban SZEVERIN és munkatársai [68, 94, 95] kimutatták, hogy a foszfát ion gátló hatása felfüggeszthető hisztidinnel, anserinnel ill. karnozinnal.

Mindezek alapján a következőkben kívánom kifejteni elképzeléseinket a két enzim ún. „aktív centrumairól”, hiszen a biokémiában ilyen hipotézisek felállítása ma már szinte kötelező. Aktív centrum alatt természetesen nem egy-egy csoportot, hanem több komponensből álló területet értünk. Mi ezeknek a területeknek csak azon alkotórészeivel foglalkozunk most, melyek szerepét eddigi vizsgálatok többé-kevésbé már valószínűsítették.

Alkoholdehidrogenáz: Kaplan [33–36] elképzelése szerint a difoszforipiridinnukleotida pirimidin gyűrűje a nitrogén atomon keresztül, a purin váza pedig az amino csoporton keresztül kötődik a fehérje SH csoportjaihoz, a pirofoszfát csoportja pedig a fehérje Zn atomjához kötődik. Kimutatta, hogy az etilalkohol a koenzimen keresztül kapcsolódik az enzimhez.

Véleményünk szerint ez csak egyenes szénláncú alkoholok oxidációjára érvényes, kiegészítve azzal, hogy az idetartozó SH csoportok különösen érzékenyek SH mérgekkel szemben.

Az elágazó szénláncú alkoholok oxidációjában más, *Zn-atomokat nem tartalmazó* aktív centrumok vesznek részt. Ezért utóbbiak alloxán jelenlétében nem működhetnek.

Véleményünk szerint a foszfogliceraldehid-dehidrogenáz esetében is az aktív területek tartalmazznak zinket és *különböző SH csoportokat*. Kétségtelen, hogy az SH csoportok egy része — mégpedig az a része, amelyik a nem természetes szubsztrát oxidációjában játszik szerepet — szorosan köti a koenzimet és különösen érzékeny SH mérgekkel szemben. Hogy hogyan kapcsolódik a koenzim a rendszerhez, a természetes szubsztrát — a foszfogliceraldehid-oxidációjánál, erre vonatkozóan még nem tudunk megfelelő képet alkotni. Egyes adatok szerint — amelyeket most nem ismertettünk — fel kell tételeznünk, hogy a difoszfopiridinnukleotida az enzim más SH csoportjaihoz is kapcsolódhat.

Ami a szubsztrát kötődését illeti, RACKER és KRIMSKY [61, 78] szerint ez is SH csoportokon keresztül történik. Az ismertett adatok alapján azonban erősen hajlunk STADTMAN [84] és SZEVERIN [68, 94] elképzelése felé, mely szerint imidazol csoport is részt vehet a szubsztrát megkötésében.

A két dehidrogenáz vizsgálata alapján tehát azt mondhatjuk, hogy az aktivitást kifejtő területeik egyes elemei sok esetben azonosak és bizonyos tekintetben azonos módon vesznek részt a működésben. Sok tekintetben azonban ugyanazon reaktív csoportok más szerepet játszanak a katalizált folyamatokban.

3. A fehérje natív szerkezetének vizsgálata

Mint bevezetőnkben említettem, kutatásaink harmadik iránya a fehérjék natív szerkezetének vizsgálata. Ilyen természetű vizsgálatokat eddig csak foszfogliceraldehid-dehidrogenázzal végeztünk.

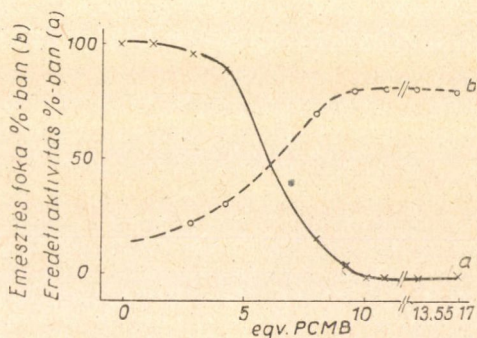
Úgy véltük, hogy egyik erre alkalmas módszer lehet a fehérje emészthetőségének tanulmányozása.

Ismeretes, hogy a fehérjék emészthetőségét, különösen a globuláris fehérjéket — azok térszerkezete határozza meg. Ezt bizonyítja az a tény, hogy globuláris fehérjék natív állapotban nehezen emészthetők, denaturálva azonban — mely folyamat a térszerkezet megbomlásával jár — a globuláris fehérjék is könnyen emészthetővé válnak [3, 8, 41, 62, 63]. Ezért a proteolízis módszerével vizsgáltuk, hogy a *koenzim* kötődése ill. *egyesszenciális* csoportok blokkolása hatással van-e a foszfogliceraldehid-dehidrogenáz térszerkezetére.

SZABOLCSINÉ [31, 87—89, 93] kimutatta, hogy az SH csoportok blokkolása nagymértékben fokozza a foszfogliceraldehid-dehidrogenáz emészthetőségét tripszinnel (8. ábra).

Mint látható, a foszfogliceraldehid-dehidrogenáz emészthetősége mindaddig fokozódik, míg az enzim gyakorlatilag teljesen nem veszti el aktivitását.

Az enzim emészthetősége azonban még jobban fokozható, ha szerkezetében mélyrehatóbb változásokat idézünk elő — pl. ureával denaturáljuk. Az

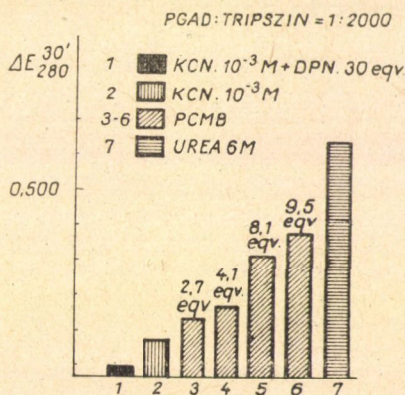


8. ábra. Foszfogliceraldehid-dehidrogenáz aktivitásának és emészthetőségének változása a p-klórmerkuribenzoát koncentráció függvényeként

- a) foszfogliceraldehid-dehidrogenáz enzimatis aktivitásának változása
b) az emészthetőség változása

enzim-koenzim komplex kialakulása viszont olyan mértékben stabilizálja a natív szerkezetet, hogy az hosszú proteolitikus behatás után sem emészthető (9. ábra).

Az ábrán különböző funkcionális állapotú foszfogliceraldehid-dehidrogenázok emészthetőségét hasonlítottuk össze. Emészthetőség szempontjából tehát az alábbi állapotokat különböztethetjük meg:



9. ábra. Különböző funkcionális állapotú foszfogliceraldehid-dehidrogenázok emészthetőségének összehasonlítása 30'-es inkubáció után

a) aktív enzim — koenzim felesleg jelenlétében egyáltalán nem emésztődik,
 b) aktív enzim — kötött difoszfopiridinnukleotida jelenlétében — lassan emésztődik,

c) gátolt enzim — jól emésztődik,

d) denaturált enzim — az emészthetőség maximális értéket ér el.

Adatainkból arra következtetünk, hogy mind a koenzim jelenléte, mind az SH csoportok blokkolása a térszerkezetet nagymértékben befolyásolja. A p-klórmerkuri-benzoáttal gátolt fehérje térszerkezete feltehetően egy átmeneti állapotnak tekinthető, mely a natív és a denaturált állapot között van. Mint ismeretes, ilyen definiált átmeneti állapotot eddig még nem sikerült kimutatni.

Ezek az eredmények ezenkívül kísérletesen is igazolják azt a lehetőséget, hogy az SH csoportok blokkolásával együtt jár a fehérje térszerkezetének megváltozása.

Az előbbieknél során felvettem azt a kérdést, hogy az aktivitás kifejtésén kívül milyen egyéb szerepe van még a fehérje szerkezetének?

Nyilvánvaló, hogy a fehérje képes kapcsolódni egyéb biológiai fontosságú anyagokhoz, mint pl. nukleinsavak, lipoidok stb. és ily módon vesz részt a sejt strukturális sajátosságainak kialakításában. Véleményünk szerint a natív fehérje szerkezetének egyéb sajátossága, hogy ellenáll az enzimatis hidrolízisnek.

Saját adataink és FISCHERnek [37] amidázzal végzett kísérletei alapján felmerül a kérdés, hogy *in vivo* a koenzimeknek és a metalloproteidek esetén a fém ionnak — vagy gátló anyagoknak — nincsen-e szerepük a fehérjék lebonthatóságában, azaz a fehérje anyagcsere szabályozásában.

A proteolízissel nyert eddigi adatok a foszfogliceraldehid-dehidrogenáz térszerkezetére adtak bizonyos felvilágosítást. További kérdés marad még, hogy milyen kötés típusok stabilizálják a ferment szerkezetét.

A kérdés ma még problematikus, az adatok eléggé ellentmondóak. Ismeretes, hogy a ferment labilis, könnyen inaktiválódik dialízis vagy átkristályosítás során.

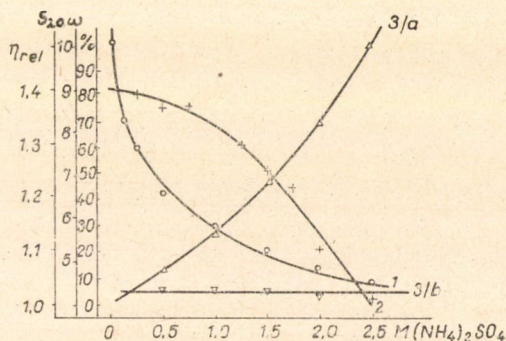
VELICK [115, 116, 119] mérései szerint a foszfogliceraldehid-dehidrogenáz diszulfidhidakat nem tartalmaz és ő ezzel magyarázza a fehérje labilitását. Véleménye szerint sóoldatok, a kötött difoszfopiridinnukleotida, az enzim töltésének megváltoztatásával stabilizálhatja a molekulát.

Ezzel szemben ismeretes az irodalomból, hogy az inaktív enzim cisztein segítségével aktiválható [14, 26, 29], ill. DÉVÉNYI [19] vizsgálatai szerint perhangyasavas oxidációval a molekula mérete nagymértékben csökkenthető.

Ezek alapján fel kell tételeznünk, hogy az SH csoportoknak valamiféle stabilizáló szerepük mégis lehet, esetleg valamilyen eddig nem tanulmányozott kötéstípusban vesznek részt. Véleményünket alátámasztani látszik az a megfigyelés is [30], hogy tioglikolát segítségével az enzim molekula méretei csak aspecifikusan befolyásolhatók. (Más sókkal is előidézhető hasonló molekula méretcsökkentés.)

ELŐDI és JÉCSAI [30] vizsgálták a szedimentációs állandó változását különböző behatásokra. Megállapították, hogy egyes ágensok (perhangyasav, triklórecetsav, urea) hatására a szedimentációs állandó irreverzibilisen csökken, a fehérje viszkozitása jelentősen megnövekszik. Ezen jelenségek alapján a fehérjemolekula kigombolyodását feltételezik.

A szedimentációs állandó reverzibilis csökkenése figyelhető meg viszont különböző sók $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, \text{MgSO}_4, \text{Li}_2\text{SO}_4]$ és saccharoz-növekvő kon-



10. ábra. A foszfogliceraldehid-dehidrogenáz szedimentációs állandójának, viszkozitásának és ferment aktivitásának összefüggése az ammoniumsulfát koncentráció változásával

1. a ferment aktivitása
2. a szedimentációs állandó
- 3a. az oldószer relatív viszkozitása
- 3b. a fehérje relatív viszkozitása

centrációjának hatására. Mivel ez esetben a fehérje viszkozitása nem változik meg, valószínű, hogy a molekula kigombolyodása nem következik be.

Vizsgálataikban kimutatták, hogy az ammoniumsulfát fentebb említett reverzibilis hatása együtt jár a ferment aktivitásának reverzibilis csökkenésével (10. ábra).

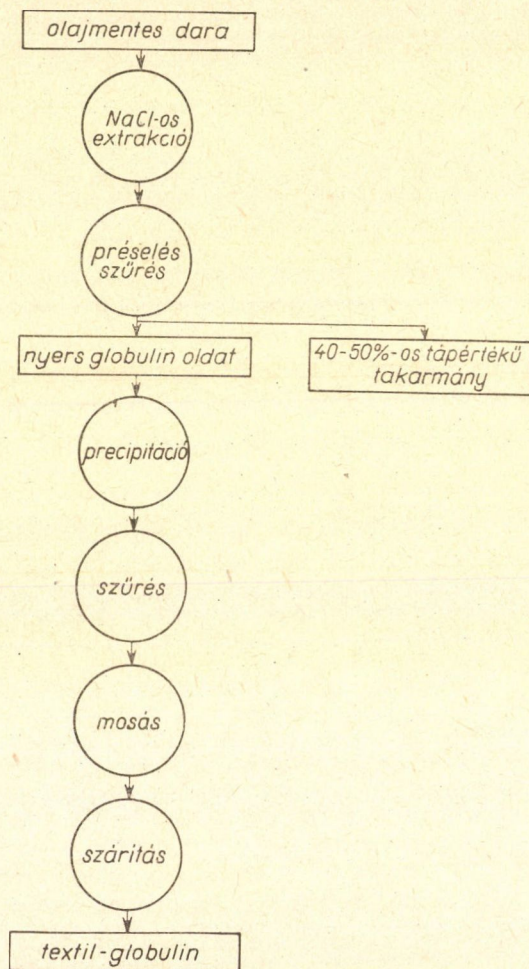
Mint az ábra mutatja, az S_{20} értéke a sókoncentráció növekedésével közel lineárisan csökken. Az enzim aktivitásának csökkenése a szedimentációs állandó változásánál nagyobb mértékű, a fehérje viszkozitása gyakorlatilag nem változik.

4. Gyapjúszerű fehérje-műszál előállításának néhány kérdése

Ismertetett elméleti munkáinkból elsősorban a foszfogliceraldehid-dehidrogenáz redukzív és oxidatív lebontásával foglalkozó munkáinkból egy érdekes és jelentős gyakorlati munka valósult meg [15]. Nevezetesen ezen elméleti vizsgálatok kellő alapot nyújtottak egy gyapjúszerű műszál kidolgozása számára. Engedjék meg, hogy igen röviden foglalkozzam ezzel a kérdéssel.

A regenerált proteinszálak az emberalkotta műszálak sokaságában viszonylag szerény helyet foglalnak el. Létrejöttük szoros kapcsolatban áll a háborús évek nehéz nyersanyaghelyzetével. Célunk nem valamiféle minőségjavítás, hanem a gyapjúhiány olcsó eszközökkel való pótlása volt. Ez a kérdés még ma is aktuális, de a mai cél konkrétan, az igen költséges gyapjúimport csökkentése. Erre irányul szerte a világon ma is ez a viszonylag fiatal iparág.

Textilglobulin előállításának vázlatja



11. ábra. Textilglobulin előállításának vázlatja

Intézetünk az elmúlt év elején a Textilkutató Intézet kezdeményezésére vetette fel e kérdést. Célunk, hazai alapanyagú proteinszál előállítása volt. Úgy véltük, hogy hazai nyersanyag és hazai technológia felhasználásával komoly

segítséget nyújthatunk textiliparunk számára. E megfontolások alapján dolgoztak ki DÉVÉNYI és munkatársai [15, 17] eljárást, proteinszál előállítására, olajmentesített napraforgó darából.

Regenerált proteinszálak előállítása három szakaszban történik:

1. Szálképzésre alkalmas, ún. textil-globulin előállítása.
2. Szálképzésre alkalmas oldat készítése.
3. Szálképzési folyamat.

Engedjék meg, hogy néhány részletkérdéssel foglalkozzam.

A globulin előállítása lényegében igen egyszerű folyamat. Vázlatát mutatja be a 11. ábra.

Mint a vázlatból is látható, lényege az olajmentesített dara extrakciója, ill. a híg, nyers globulin oldat precipitációja. Ez egyben az előállítás két kritikus pontja is. Mint ismeretes, a növényi globulinok pH-tól nagymértékben függő, labilis asszociációs-disszociációs rendszert képeznek. Ez feltehetően a viszonylag magas cisztein tartalommal van összefüggésben [48a]. A rendszer csak szűk pH-intervallumban stabilis, egyébként gyorsan és irreverzibilisen épül le.

A globulin leépülése döntően kihat a belőle nyert műszál mechanikai tulajdonságaira. Sikerült úgy megoldanunk a globulin kritikus precipitációját, hogy a globulin asszociációs készségét nem vesztette el, és belőle nagy szakítóerejű szál nyerhető. Ezt mutatja be a 12. ábra.

Szálképzésre használt globulin	Szakítóerő g/denier	Nyúlás %	Szálfinomság
pH = 2-nél precipitált globulin	0,27	22,0	5,7
két lépésben precipitált globulin (pH = 3 → pH = 5)	0,70	59,0	2,5

12. ábra. A globulin-precipitáció pH-jának hatása Eirilán mechanikai szilárdságára

Mint az ábra adataiból látható, a pH = 2-nél precipitált globulinból nyert szál szakítóereje rendkívül csekély, ugyanakkor a két lépésben precipitált globulinból nyert szálé megfelel a laboratóriumi körülmények között nyerhető maximális értéknek. Ultracentrifugával nyert adataink alapján az általunk kidolgozott eljárás szerint két lépésben precipitált globulin mintegy 30–40 000-es molekulasúllyal rendelkezik.

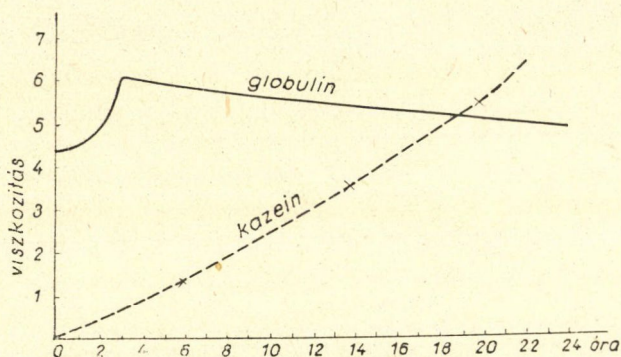
Ez az érték megfelel az angliai ipar által termelt globulin molekulasúlyával.

Legyen szabad egy jelentős és érdekes kiragadott problémát felvetni a szálképző oldat készítésével kapcsolatban. A szálképzés előfeltétele nagy fehérje koncentrációjú, magas viszkozitású stabilis oldat készítése. Angol szerzők vizsgálatai szerint globulinok lúg jelenlétében két irányú változást szenvedhetnek [103a].

Az egyik lehetőség a polipeptid lánc kigombolyodása. Ennek következtében az eddig maszkírozott reaktív csoportok felszabadulnak (pl. SH), intermolekuláris kötések képződnek (pl. S-S), ami konc. oldatban a fehérje molekulák nagyfokú asszociációját idézi elő. Ez a folyamat gélképződéshez vezet.

A másik lehetőség ezzel ellentétes irányú, a fehérjemolekula leépülése, ami viszont a viszkozitás gyors csökkenésével jár együtt. Angol szerzőknek amerikai mogyoró globulin esetében sikerült a gélképződés határán a fehérjekoncentráció és alkalitás olyan arányát találni, amely mellett az oldat még éppen stabilis. Napraforgó-globulin esetében a rendszer összetételének ilyen pontja nem található.

DÉVÉNYINEK sikerült azonban olyan redukálószer találnia, melynek jelenlétében magas fehérjetartalom mellett is megakadályozható az asszociá-



13. ábra. Száلكépző oldatok viszkozitásának változása időben

Globulin-oldat viszkozitás-változása tioglikolsav jelenlétében, pH 10-nél.
Kazein-oldat viszkozitás-változása pH 10-nél

ciós folyamat és a globulin-oldat hosszú ideig stabilis és száلكépző. Ez a redukálószer tioglikolsav. Jelenlétében az oldat viszkozitása közvetlenül a lúg adagolása után már a száلكépző intervallumban van és csak lassan csökken. Ugyanakkor egy pl. kazeinből készített oldat (mely fehérjének viszonylag alacsony a ciszteintartalma és lúgos közegben stabilis oldatot képez), viszkozitása csak hosszú idő után éri el a száلكépző intervallumot. Ezt mutatja be a 13. ábra.

Nem kívánom részletezni a sokoldalú munka minden részletét, különösen nem a száلكépzés technológiai problémáit. Befejezésül legyen szabad a napraforgó-globulinból nyert fehérjeműszálunk, az Erilán mechanikai tulajdonságait demonstrálni a következő táblázattal (14. ábra).

A táblázat adataiból kitűnik, hogy az Erilán szakítószilárdsága mintegy 30%-kal magasabb, mint az azonos száلكépzési technológiával egyidejűleg készített angol proteinszálé, az Ardilé. Ugyancsak kitűnik a táblázatból,

	Szálfinomság (denier)	Szaktőőrő (g/denier)	Nyúlás (%)
globulin-szál amerikaiogyoróból (ardil)	4,93	0,43	27,4
	4,91	0,46	10,8
globulin-szál napraforgóból (erilan)	2,50	0,70	59,0
	4,00	0,63	53,9
	3,64	0,67	66,0
módosított angol technológiával nyert Erilán	2,2	1,27	21,0

(Az I. C. I. Fibre Division Harrogate-i laboratóriumában végzett kísérletek.)

14. ábra. Globulin-műszálak mechanikai adatai

hogyan egy módosított technológiával sikerült olyan nagyszilárdságú Erilánt is előállítanunk, mely jelentősen jobb, mint az összes eddigi fehérje műszál.

*

Ismertetni igyekeztem Intézetünk legutóbbi eredményeit. Úgy vélem, a felsorolt néhány adat alapján is állíthatjuk, hogy közelebb jutottunk a szerkezet és funkció kapcsolatának megismeréséhez.

Mondanom sem kell, hogy a kérdés végleges tisztázásától még bizony elég távol vagyunk, de remélem, hogy az az út, melyen a kérdés megismerése felé igyekszünk, helyes és járható.

IRODALOM

- ADLER E., v. EULER H., GÜNTHER G.: Scand. Arch. Physiol. 80, 1, 1938.
- ANFINSEN C. B., RIEDFELD R. R.: Adv. Protein Chem. 11, 1, 1956.
- ANSON M. L., MIRSKY A. E. J.: Gen. Physiol. 17, 399, 1934.
- ANTONI F., KELETI T.: Nature 179, 1020, 1957.
- ANTONI F., KELETI T.: Acta Physiol. Hung. 13, 187, 1958.
- BARRON E. S. G.: Adv. Enzymol. 11, 201, 1951.
- BARRON E. S. G., LEVINE S.: Arch. Biochem. Biophys. 41, 175, 1952.
- BERNHEIM F., NEURATH H., ERICKSON J. O.: J. Biol. Chem. 144, 259, 1942.
- BOROSS L., SAJGÓ M., DÉVÉNYI T.: Magy. Kém. Folyóirat sajtó alatt.
- BOZSÓKY S., ELŐDI P.: Acta Microbiol. Hung. 4, 175, 1957.
- BOYER P. D., SEGAL H. L. in W. McElroy, B. Glass: The Mechanism of Enzyme Action. J. Hopkins Press Baltimore 1954 p. 520.
- BURTON R. M., KAPLAN N. O.: J. Biol. Chem. 211, 447, 1954.
- CHAYKIN S., MEINHART J. O., KREBS E. G. J. Biol. Chem. 220, 811, 1956.
- CORI G. T., SLEIN M. W., CORI C. F. J. Biol. Chem. 173, 605, 1948.
- DÉVÉNYI T., BIHARI M., SAJGÓ M., LAKNER K.: Magy. Kém. Lapja sajtó alatt.
- DÉVÉNYI T., PUSZTAI Á., SAJGÓ M., SZÖRÉNYI B.: Acta Physiol. Hung. 13, 95, 1958.
- DÉVÉNYI T., SAJGÓ M., LAKNER K., FÖLDES P.: Magy. Szabadság 1958.
- DÉVÉNYI T., SAJGÓ M., SZÖRÉNYI B.: Acta Physiol. Hung. 13, 89, 1958.
- DÉVÉNYI T., SAJGÓ M., SZÖRÉNYI B.: Acta Physiol. Hung. 12, Suppl 68, 1958.
- DÉVÉNYI T., SZÖRÉNYI B., SAJGÓ M.: Magy. Kém. Folyóirat 62, 377, 1956.
- DIXON M.: Nature 140, 806, 1937.
- DRABKIN D. L., MEYERHOF O.: J. Biol. Chem. 157, 571, 1945.
- ELŐDI P.: Összehasonlító vizsgálatok d-glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenázokon. Kandidátusi disszertáció Budapest, 1957.
- ELŐDI P.: Postepy Biochemii 3, 241, 1957.
- ELŐDI P.: Biol. Köz. 5, 87, 1958.
- ELŐDI P.: Acta Physiol. Hung. 13, 199, 1958.
- ELŐDI P.: Acta Physiol. Hung. 13, 219, 1958.

28. ELŐDI P.: *Acta Physiol. Hung.* 13, 233, 1958.
29. ELŐDI P.: *Acta Physiol. Hung.* 12 Suppl. 69, 1958.
30. ELŐDI P.: *Jécsai Gy. előkészületben.*
31. ELŐDI P., KELETI T., SZABOLCSI G.: *Acta Biol. Hung. Suppl.* 1958 sajtó alatt.
32. ELŐDI P.: SZÖRÉNYI E.: *Acta Physiol. Hung.* 9, 339, 1956.
33. VAN EYS J., CIOTTI M. M., KAPLAN N. O.: *Biochim. Biophys. Acta* 23, 581, 1957.
34. VAN EYS J., CIOTTI M. M., KAPLAN N. O.: *J. Biol. Chem.* 231, 571, 1958.
35. VAN EYS J., KAPLAN N. O.: *Biochim. Biophys. Acta* 23, 574, 1957.
36. VAN EYS J., SAN PIETRO A., KAPLAN N. O.: *Science* 127, 1443, 1958.
37. FISCHER E. H., SUMERWELL W. B., JUNGE J., STEIN E. A.: IV. Internat. Kongress für Biochemie. Wien 1958. Symposium No. VIII. Ref. No. 7.
38. HARTING J., CHANCE B.: *Fed. Proc.* 12, 714, 1953.
39. HARTING J., VELICK S. F.: *J. Biol. Chem.* 207, 857, 1954.
40. HARTING J., VELICK S. F.: *J. Biol. Chem.* 207, 867, 1954.
41. HAUROVITZ F., TUNCA M., SCHWERIN P., GÖKSU W.: *J. Biol. Chem.* 157, 621, 1945.
42. HOCH F. L., VALLEE B. L.: III. Congrès Internat. de Biochimie. Bruxelles 1955. Résumés des Communications. p. 52.
43. HOCH F. L., VALLEE B. L.: *J. Biol. Chem.* 221, 491, 1956.
44. HOCH F. L., VALLEE B. L.: *Fed. Proc.* 15, 93, 1956.
45. HOCH F. L., WILLIAMS R. J. P., VALLEE B. L.: *J. Biol. Chem.* 232, 453, 1958.
46. HOCH F. L., WILLIAMS R. J. P., VALLEE B. L.: IV. Internat. Kongress für Biochemie. Wien 1958. Abstract of Communications. p. 58.
47. HOCH F. L., ZOTOS B.: *Fed. Proc.* 16, 359, 1957.
48. HOLZER H., HOLZER E.: *Z. physiol. Chem.* 291, 67, 1953.
- 48a. JOHNSON P.: Naismith W. E. F. *Disc. Faraday Soc.* 13, 98, 1953.
49. KELETI T.: *Acta Physiol. Hung.* 9, 415, 1956.
50. KELETI T.: Közeli élesztőfajták egyes enzimjeinek összehasonlító vizsgálata. Kandidátusi disszertáció Budapest, 1956.
51. KELETI T.: *Acta Physiol. Hung.* 13, 103, 1958.
52. KELETI T.: *Acta Physiol. Hung.* 13, 239, 1958.
53. KELETI T.: *Acta Physiol. Hung.* 13, 243, 1958.
54. KELETI T.: *Acta Physiol. Hung.* 13, 309, 1958.
55. KELETI T.: *Acta Physiol. Hung.* 12. Suppl. 71, 1958.
56. KELETI T., ELŐDI P.: Telegdi M. előkészületben.
57. KELETI T., TELEGDI M.: *Acta Physiol. Hung.* sajtó alatt.
58. KELETI T., TELEGDI M.: előkészületben.
59. KOEPPE O. J., BOYER P. D.: Stulberg M. P. *J. Biol. Chem.* 219, 569, 1956.
60. KREBS E. G., RAFTER G. W.: *Fed. Proc.* 11, 243, 1952.
61. KRIMSKY I., RACKER E.: *Science* 122, 319, 1955.
62. KUNITZ M., J. GEN.: *Physiol.* 30, 291, 1947.
63. LINEWEAVER H., HOOVER S. R.: *J. Biol. Chem.* 137, 325, 1941.
64. MAHLER H. R., ELOWE D.: *Biochim. Biophys. Acta* 14, 100, 1954.
65. MEINHART J. O., CHAYKIN S., KREBS E. G.: *J. Biol. Chem.* 220, 821, 1956.
66. MEYERHOF O., JUNOWICZ—KOCHOLATY R.: *J. Biol. Chem.* 149, 71, 1943.
67. MEYERHOF O., OESPER P.: *J. Biol. Chem.* 170, 1, 1947.
68. NAGRADOVA M. K.: *Biochimija* 23, 511, 1958.
69. NEGELEIN E., BRÖMEL H.: *Biochem. Z.* 301, 135, 1939.
70. NEGELEIN E., BRÖMEL H.: *Biochem. Z.* 303, 132, 1939.
71. NEGELEIN E., WULFF H. J.: *Biochem. Z.* 293, 351, 1937.
72. OESPER P.: *J. Biol. Chem.* 207, 421, 1954.
73. PUTNAM F. W.: in H. Neurath, K. Bailey: *The Proteins*. Vol. 1. Part B. Acad. Press Inc. Publ. New-York 1953. p. 893.
74. RAFTER G. W.: *Arch. Biochem. Biophys.* 67, 267, 1957.
75. RAFTER G. W., CHAYKIN S.: Krebs E. G. *J. Biol. Chem.* 208, 799, 1954.
76. RAFTER G. W., COLOWICK S. P.: *J. Biol. Chem.* 224, 373, 1957.
77. RACKER E., *J. Biol. Chem.* 184, 313, 1950.
78. RACKER E., in W. NELROY, B. Glass: *The Mechanism of Enzyme Action*. J. HOPKINS Press. Baltimore 1954. p. 464.
79. RACKER E., KRIMSKY I.: *J. Biol. Chem.* 198, 731, 1952.
80. SAJGÓ M., előkészületben
81. SEGAL H. L., BOYER P. D.: *J. Biol. Chem.* 204, 265, 1953.
82. SEXTON W. A., TODD A. R.: *Chemical Constitution and Biological Activity*. 2 nd. ed. E. and F. N. Spon Ltd. London 1953.

83. SIZER W., GIERER A.: Discussions Faraday Soc. No 20, 248, 1955, (Pub. 1956.)
84. STADTMAN E. R. in W. McELROY, B. Glass The Mechanism of Enzyme Action. J. HOPKINS Press. Baltimore 1954. p. 581.
85. STRAUB F. B. Ann. Review of Biochem. 19, 371, 1950.
86. SUND H., WALLENFELS K.: IV. Internat. Kongress für Biochemie. Wien 1958. Abstracts of Communications. p. 57.
87. SZABOLCSI G.: Szerkezet és működés kapcsolatának tanulmányozása homológ fehérjéken az enzimatis hidrolízis körülményei között. Kandidátusi disszertáció Budapest, 1957.
88. SZABOLCSI G.: Acta Physiol. Hung. 13, 213, 1958.
89. SZABOLCSI G.: Acta Physiol. Hung. 12, Suppl. 70, 1958.
90. SZABOLCSI G.: Biszku E., Szörényi E. Biochim. Biophys. Acta Sajtó alatt.
91. SZABOLCSI G.: Elődi P. Acta Physiol. Hung. 13, 207, 1958.
92. SZABOLCSI G., SZÖRÉNYI E.: Acta Physiol. Hung. 9, 293, 1956.
93. SZABOLCSI G., SZÖRÉNYI E.: IV. Internat. Kongress für Biochemie. Wien 1958. Abstracts of Communications p. 56.
94. SZEVERIN Sz. E.: IV. Internat. Kongress für Biochemie Wien 1958. Abstracts of Communications. p. 67.
95. SZEVERIN Sz. E., NAGRADOVA N. K.: Dokl. Akad. Nauk. 121, 519, 1958.
96. SZÖRÉNYI L.: MTA Biol. Orv. Tud. Közl. 7, 329, 1956.
97. SZÖRÉNYI E. T., DVORNYIKOVA P. D.: Ukr. Biohim. Zsurn. 22, 127, 1950.
98. SZÖRÉNYI E. T., DVORNYIKOVA P. D.: Degtar R. G. Ukr. Biohim. Zsurn. 21, 118, 1949.
99. SZÖRÉNYI E. T., ELŐDI P.: Ukr. Biohim. Zsurn. 26, 387, 1954.
100. SZÖRÉNYI E. T., ELŐDI P., DÉVÉNYI T.: Acta Physiol. Hung. 9, 351, 1956.
101. SZÖRÉNYI E. T., KELETI T., ELŐDI P., SZABOLCSI G.: IV. Internat. Kongress für Biochemie Wien 1958. Abstracts of Communication p. 56.
102. THEORELL H., BONNICHSEN R.: Acta Chem. Scand. 5, 1105, 1951.
103. THEORELL H., NYGAARD A. P.: Bonnichsen R. Acta Chem. Scand. 9, 1148, 1955.
- 103a. THOMPSON R. H. K., JOHNSON A.: J. Soc. Chem Ind. 56, 373, 1947.
104. VALLEE B. L.: Adv. in Protein Chem. 10, 317, 1955.
105. VALLEE B. L.: IV. Internat. Kongress für Biochemie Wien 1958. Symposium No. VIII. Ref. No. 8.
106. VALLEE B. L., COOMBS T. L., WILLIAMS R. J. P.: Fed. Proc. 16, 264, 1957.
107. VALLEE B. L., COOMBS T. L., WILLIAMS R. J. P.: J. Am. Chem. Soc. 80, 397, 1958.
108. VALLEE B. L., HOCH F. L.: III. Congrès Internat. de Biochimie. Bruxelles 1955. Résumé des Communications. p. 52.
109. VALLEE B. L., HOCH F. L.: J. Am. Chem. Soc. 77, 821, 1393 1955.
110. VALLEE B. L., HOCH F. L.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 41, 327, 1955.
111. VALLEE B. L., HOCH F. L.: Fed. Proc. 15, 619, 1956.
112. VALLEE B. L., HOCH F. L.: J. Biol. Chem. 225, 185, 1957.
113. VALLEE B. L., HOCH F. L., Adelstein S. J., Wacker W. E. C. J. Am. Chem. Soc. 78, 5879, 1956.
114. VALLEE B. L., KÄGI J. H. R., HOCH F. L.: Fed. Chem. Proc. 17, 326, 1958.
115. VELICK S. F.: J. Biol. Chem. 203, 563, 1953.
116. VELICK S. F. in W. McELROY: B. Glass The Mechanism of Enzyme Action J. Hopkins Press Baltimore 1954. p. 491.
117. VELICK S. F., HAYES J. E. JR.: J. Biol. Chem. 203, 545, 1953.
118. VELICK S. F., HAYES J. E. JR.: HARTING J.: J. Biol. Chem. 203, 527, 1953.
119. VELICK S. F., RONZONI E.: J. Biol. Chem. 173, 627, 1948.
120. WACKER W. E. C., VALLEE B. L., HOCH F. L.: IV. Internat. Kongress für Biochemie Wien 1958. Abstracts of Communications p. 57.
121. WALLENFELS K., SUND H., ANGEW.: Chem. 67, 517, 1955.
122. WALLENFELS K., SUND H.: Biochem. Z. 329, 17, 1957.
123. WALLENFELS K., SUND H.: Biochem. Z. 329, 31, 1957.
124. WARBURG O.: Wasserstoffübertragende Fermente. Werner Saenger G. M. B. H. Berlin, 1948.
125. WARBURG O., CHRISTIAN W.: Biochem. Z. 301, 221, 1939.
126. WARBURG O., CHRISTIAN W.: Biochem. Z. 303, 40, 1939.
127. WARBURG O., GAWEHN K., GEISSLER A. W.: Z. Naturforsch. 12b, 47, 1957.
128. WARBURG O., KLOTZSCH, GAWEHN K.: Z. Naturforsch. 9b, 391, 1954.
129. WILLIAMS R. J. P., HOCH F. L., VALLEE B. L.: J. Biol. Chem. 232, 465, 1958.