

A LIZIN ÉS AZ ARGININ, VALAMINT N^e — ILLETVE N^c — METILEZETT SZÁRMAZÉKAIK BIOLÓGIAI JELENTŐSÉGE

TYIHÁK ERNŐ, SZENDE BÉLA az orvostudományok kandidátusa és LAPIS KÁROLY,
az MTA levelező tagja

Közlésre érkezett: 1974. III. 6.

A nukleinsavak és az aminosavak, illetve fehérjék közötti alapvető kapcsolatok közül az egyik legjelentősebb — a biológiai rendszerek mai állapotában és feltételezhető, hogy e rendszerek evolúció során létezett, különböző fejlettségű formáinál is — a molekuláris kölcsönhatásokban nyilvánul meg (*Saxinger és mtsai*, 1971). Az aminosavak és a fehérjék e kölcsönhatásokból eredő biológiai funkciói közül a génaktivitás befolyásolásában játszott szerepük a legfontosabb.

Az aminosavak és fehérjék a különböző biológiai rendszerekben más vegyülettípusokkal is kölcsönhatásban, immobilizált állapotban lehetnek, ami elsősorban a különböző összetett fehérjékben és azok biológiai funkciójában érzékelhető.

Az egyes aminosavak és fehérjék a biológiai rendszerek egyéb vegyületeivel szembeni viselkedése (immobilizálhatósága) — felépítésükből, töltésviszonyaiból eredően — jelentősen eltér, de függ a kölcsönhatásban résztvevő anyagok méretétől, összetételétől és konformációs viszonyaitól is (*Leng és Felsenfeld*, 1966; *Wagner*, 1969). Ilyen értelemben az erős bázikus csoporttal rendelkező L-lizin és L-arginin a biológiai rendszerekben lejátszódó molekuláris kölcsönhatásokban fontos helyet foglal el. A kromatin nukleoproteidjeiben a fehérjerészt képező hisztonok egyrészt lizingazdagok, másrészt arginingazdagok lehetnek (*Bonner és mtsai*, 1968; *Zimmermann*, 1972), de egyes sejtek magjaiban a kromatinállomány fehérje-összetevői között poliarginin jellegű fehérjék (protaminok) is előfordulnak (*Bloch*, 1969).

A DNS-fehérje kölcsönhatások néhány jellemző vonását már ismerjük. *Leng és Felsenfeld* (1966) megállapították, hogy a szintetikus polilizin elsősorban az adeninnel és a timinnel reagál, kapcsolódik, míg a poliarginin számára a legkedvezőbb reakciófelület a szabad DNS citozin- és guanin-gazdag szekvenciája. Ezek a reakciók szelektívek, reverzibilisek, társasok és sztöchiometrikusak. Azt is sikerült megállapítani, hogy a poliarginin—DNS kölcsönhatás erősen koncentrációtól függő, és pedig akkor érhető el az optimum, ha az arginin mólszázaléka a fehérjében eléri a 60-at. Ismeretes, hogy egyetlen fehérjetípus felel meg e követelménynek: a protamin, azaz ez az egyedüli

természetes partnere ilyen szempontból — eddigi ismereteink szerint — a DNS-nek (*Shapiro és mtsai, 1969*). Nagyon érdekesek azok a megállapítások is, amelyek szerint a szintetikus pirimidin poliribonukleotidokkal az arginin-hiányos lizingazdag proteonidok, míg a purin poliribonukleotidokkal a lizin-hiányos arginingazdag proteonidok reagálnak könnyebben (*Yuki és Fox, 1969*). Újabban azt is sikerült bizonyítani, hogy az arginingazdag hisztonok természetes kötődési helyei a DNS guanin-citozin-gazdag szekvenciája (*Clark és Felsenfeld, 1972*), azaz a szintetikus poliargininnel kapott eredmények (*Leng és Felsenfeld, 1966*) természetes fehérjék esetében is igazolást nyertek.

Az utóbbi években a hisztonokat és más fehérjéket specifikusan módosító enzimatis reakciókat (acetilálás, foszforilálás, metilezés stb.) sikerült megismerni (*Paik és Kim, 1971; Tyihák, 1972*). E fehérje-módosító reakciók közül különös jelentőséget kell tulajdonítanunk a metilezésnek, amelynek eredményeként elsősorban a bázikus aminosavak (lizin, arginin és hisztidin) különösen stabil N-metil származékai, s részben az aminodikarbonsavak (aszparaginsav és glutaminsav) kevésbé stabil karboximetil származékai keletkeznek (*Paik és Kim, 1971; Tyihák és mtsai, 1974*).

Nyilvánvaló az eddigiekből, hogy a lizin és az arginin monomer és polimer formáinak a biológiai rendszerekben egymással megosztott, sőt antagónisztikus funkciói vannak, s ez már a genetikai anyagban testet ölt. Ilyen értelemben kísérlethetjük meg e két bázikus aminosavval és metilezett származékaikkal az utóbbi időben kapott kísérleti adatok értelmezését is.

A lizin—arginin antagonizmus

Az élő szervezetek fehérje-aminosavai között az L-argininnek és az L-lizinnek egyaránt fontos szerepe van. Ezen aminosavak nélkülözhetetlensége a zavartalan növekedéshez a legkülönbözőbb objektumokon igazolást nyert, de a megosztott, sőt antagónisztikus szerep az eddigi kétségtelenül szerény adatokból is nyilvánvalónak látszik.

A különböző adenovírusok szintézise sejtkultúrában csupán arginin jelenlétében lehetséges (*Rouse és Schlesinger, 1967; Dubes és mtsai, 1968*). Arginin hiányában a fertőzött sejtekben a vírus DNS és a kapszid antigének csökkent mértékben szintetizálódnak, de nem fertőző vírus valamennyi sejtben kimutatható. Ha arginint adagolnak ezekhez a sejtekhez, akkor a fertőző-képesség gyors növekedése tapasztalható. Ugyancsak arginin szükséges a herpes-vírus replikációjához is (*Inglis, 1968*). Ismeretesek viszont olyan adatok is, amelyek szerint az influenza vírus szintézisét az L-lizin jelentősen gátolja meghatározott körülmények között. Ez a gátló hatás más aminosavakkal feloldható (*Eaton és mtsai, 1965*). A lizin—arginin antagonizmust azonban vírusok esetén eddig egyértelműen nem sikerült bizonyítani.

Más mikroorganizmusok esetén az arginin ugyancsak nélkülözhetetlen a tenyésztéshez (Chang és Shung, 1968; Pass és Razynska-Bojanowska, 1969). A *Neurospora crassa* (Doermann, 1944) és az *Aspergillus nidulans* (Pontecorvo és mtsai, 1953) esetén megállapították, hogy a bevitt lizin jelentősen gátolja az arginin auxotrophok növekedését. Roess és De Busk (1968) munkája nyomán feltételezhető, hogy ezen mikroorganizmusok esetén a két bázikus aminosav felvételénél a permeázok szintjén jelentkező kompetíció a lizin—arginin antagónizmus tényleges oka.

A növények anyagcseréjében az arginin egyrészt N-forrássul szolgál a szintézis folyamatokban, másrészt, mint akceptor a nitrogén egyik fő megkötője (Pleskov és Vil'yams, 1965; Baret és mtsai, 1966). Néhány *Leguminosae*-fajnál és a *Cucurbitaceae*-hez tartozó fajoknál — különösen a csírázás alatt — intenzív arginin-anyagszere folyik (Jones és Boulter, 1968). Különösen figyelemre méltónak nevezhetők — általános biológiai szempontból is — azok a megállapítások, hogy a stressz-hatások különösen hatnak a növények arginin-szintjére. Így pl. a kókuszpálma betegsége a fiatal levelek arginin-tartalmát jelentősen megnöveli (Pillai és Shanta, 1965). Cukorrépa-levéiben is vírusfertőzés hatására az argininszint intenzív növekedése figyelhető meg (Lerch és Stegemann, 1970). A cukornád sejtek szuszpenziós kultúrájában (Nickell és Maretzki, 1969), valamint rizs kallusz szövettényeszeteiben (Furushashi és Yatazawa, 1970) az arginin jelentős növekedést elősegítő szerepét sikerült bizonyítani, de a lizin hiánya a táptalajból ugyancsak elősegítette az összes aminosavhoz képest, de főleg az argininhez képest a sejtszaporulatot, ami a két bázikus aminosav ellentétes funkciójára utal a növényi sejtben.

Az állati szervezetben az arginin, mint a karbamidciklus tagja, az ammonia, vagy az ammoniumionok eltávolításával a szervezet méregtelenítését segíti elő (Roberge és Charbonneau, 1969). Már általánosan bizonyított, hogy az L-lizin főlegesen való adagolása a fiatal csirkék táplálékához megnöveli az arginin-szükségletet, ami csökkent növekedési rátában, argininhiányos szimptomákban, valamint a plazma csökkent arginin szintjében is megnyilvánul (Jones, 1964; O'Dell és Savage, 1966; Boorman és Fisher, 1966). A plazma arginin-szintjének a csökkenését valószínűleg a csirke renalis tubulusain a lizin és az arginin közötti versengésből adódó felszívódási arginin-vesztés okozza (Jones és mtsai, 1967).

Graffi és mtsai (1965) a mitochondriális proteinszintézisre vonatkozó vizsgálataiknál megállapították, hogy a legtöbb tumor esetén alacsony leucin és viszonylag magas argininbeépülés figyelhető meg. A kapott adataik azt bizonyítják, hogy részben nem maga az arginin, hanem a belőle keletkező új aminosavak épülnek be a mitochondrium fehérjéibe, továbbá a fokozódó arginin-beépülés ellenére a bázikus fehérjék (hisztonok és protaminok) szintézise nem fokozódik. Az argininhez képest a lizinnek a beépülése csekélynek bizonyult. A tumoroknál észlelt különösen magas argininbeépülés miatt azt

javasolják, hogy rákos betegeknek az arginin-adagolást minimálisra kell csökkenteni, továbbá fontosnak tartják az arginin fehérjékbe történő beépülésének a meggátolását különböző természetes antagonisták (ornitin, citrullin, glicin stb.) segítségével.

A lizin—arginin antagonizmus különösen szemléletesen mutatható be az állati tumorokra kifejtett hatásuk alapján. Néhány egyéb aminosav (metionin, asparaginsav, glutaminsav) mellett az L-lizin és az L-arginin nagy adagjainak enterális vagy parenteralis bevitele statisztikailag értékelhetően befolyásolni képes átoltható állati daganatok növekedését (1. táblázat) (Tyihák

I. táblázat

Néhány aminosav racém
és optikailag aktív formáinak hatása állati tumorok növekedésére
(Tyihák és Szende, 1967—1970)

Aminosav	Állati tumor törzs	Dózis mg/kg/nap	Kezelési mód	Hatás gátlás (—) serkentés (+)
DL-asparaginsav	Guérin	600	p. o.	0
L-asparaginsav	Guérin	200	p. o.	+15
D-asparaginsav	Guérin	1000	p. o.	—80
DL-glutaminsav	Ehrlich	1000	i. p.	0
L-glutaminsav	Ehrlich	1000	i. p.	—75
D-glutaminsav	Ehrlich	1000	i. p.	+20
DL-arginin	Yoshida	500	i. p.	0
L-arginin	Yoshida	500	i. p.	+40
D-arginin	Yoshida	500	p. o.	—50
L-lizin	Yoshida	1000	p. o.	—50

és Szende, 1967—1970; Szende, 1973). Mégpedig az L-lizin jelentős tumornövekedést gátlónak, az L-arginin pedig tumornövekedést serkentő hatásának bizonyult, míg a megfelelő antipodok ennek az ellenkezőjét mutatták. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az α -aminosavak optikai aszimmetriája és a rosszindulatú sejtburjánzás között közvetett vagy közvetlen kapcsolat állhat fenn.

Más aminosavak, mint a cystein, cystin, glycin, serin, triptophan, threonin még nagy adagokban alkalmazva sem befolyásolták a daganatnövekedést, tehát nem egyszerűen az aminosav-imbalance az, ami az egyes aminosavak adagolása nyomán a daganatnövekedés változásait előidézi, hanem a hatékony aminosavak (pl. lizin és arginin) speciális struktúrájából eredő biológiai funkciója az, amely a hatásért felelős (Szende, 1973).

N^e-metilezett lizinek és az N^G-metilezett argininek előfordulása az élővilágban

A fehérjemolekula szerkezetét elsődlegesen a felépítésében résztvevő aminosavak sorrendje szabja meg. Egyes fehérjék szerkezete a genetikai translatio után tovább módosulhat az egyes aminosavak oldalláncainak specifikus enzimekkel történő átalakításával. E fehérje-módosító reakciók közül a metile-

zés esetén a különböző fehérjékben elsősorban a lizin ε -NH₂ csoportján, valamint az arginin guanidino-csoportján következik be az átalakítás. E fehérjék természetes bomlásakor a metilezett aminosavak felszabadulnak, s így szabad előfordulásukkal is számolni kell. Az N^ε-metilezett lizinek (N^ε-monometil-L-lizin (MML)(I); N^ε-dimetil-L-lizin (DML)(II); N^ε-trimetil-L-lizin (TML)(III), valamint a guanidino-metilezett argininek (N^G-monometil-L-arginin (MMA)(IV); N^G, N^G- dimetil-L-arginin (DMA)(V) (aszimmetrikus dimetil-arginin); N^G, N^G-dimetil-L-arginin(DMA')(VI) (szimmetrikus dimetil-arginin) széles körű szabad és kötött formában való előfordulását bizonyítják a 2. táblázat adatai.

A 2. táblázat adataihoz a következő kiegészítő megjegyzéseket fűzzük:

a) Az N^ε-monometil-L-lizint a *Salmonella typhimurium* flagellinében találták meg először (Ambler és Rees, 1959). Stocker és mtsai (1961) szerint a lizinszármazék hiányát vagy jelenlétét a *Salmonella* flagellinben egyetlen gén határozza meg, mely egyetlen enzimet kódol, s ez specifikusan metilezi a flagellin egyes lizin-molekuláinak ε -amino csoportjait.

b) A hiszton molekulák lizin ε -NH₂ csoportjainak a metilezéséért felelős enzimrendszer a sejtmagban helyezkedik el, s a metilezés eredményeként mindig csak N^ε-mono- és N^ε-dimetil-L-lizin képződik (Comb és mtsai, 1966). Nem ismeretes még, hogy az N^ε-trimetil-L-lizin képződését ugyanez, vagy más specifikus enzim katalizálja. Ez különösen érdekes a mikrobiális és növényi citokromok esetén, ahol a három N^ε-metilezett lizin közül csak a TML van jelen a molekulában (DeLange és mtsai, 1969—1970).

c) Feltűnő, hogy egyes algákban (*Laminariaceae*) a TML az egyik szabad fő aminosav (Takemoto és mtsai, 1964—1965). Azt még nem tudjuk, hogy ezekben az algákban a nagytömegű TML specifikus gén- ill. enzimrendszer metilezésének a terméke-e szabad lizinből, vagy pedig enzimatikusan metilezett hisztonok, vagy más fehérjék bomlásterméke, mindenesetre algákban nagy aktivitású lizinmetiláz enzimmal kell számolni.

d) Néhány tengeri diatomafaj sejtfalának hidrolizátumában megtalálták az N^ε-trimetil-L- δ -hidroxilizint (VII) és annak monofoszfó-0-észterét (VIII) is (Nakajima és Volcani, 1970). Ezek képződéséről és főleg funkcióikról még nem tudunk semmit.

e) Különösen figyelemre méltó, hogy az emberi vizeletben viszonylag nagy mennyiségben található az N^ε-metilezett lizinek és az N^G-metilezett argininek, ami arra utal, hogy az emberi szervezetben is jelentős fehérje-metilezés folyik (Kakimoto és Akazawa, 1970).

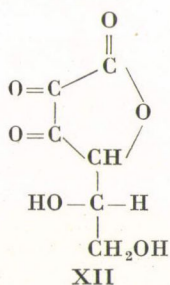
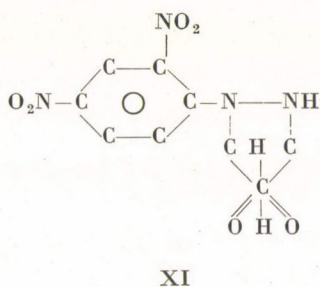
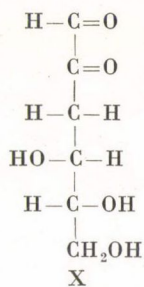
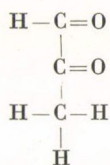
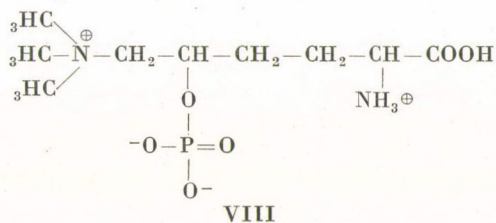
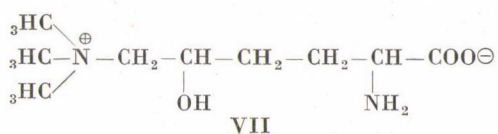
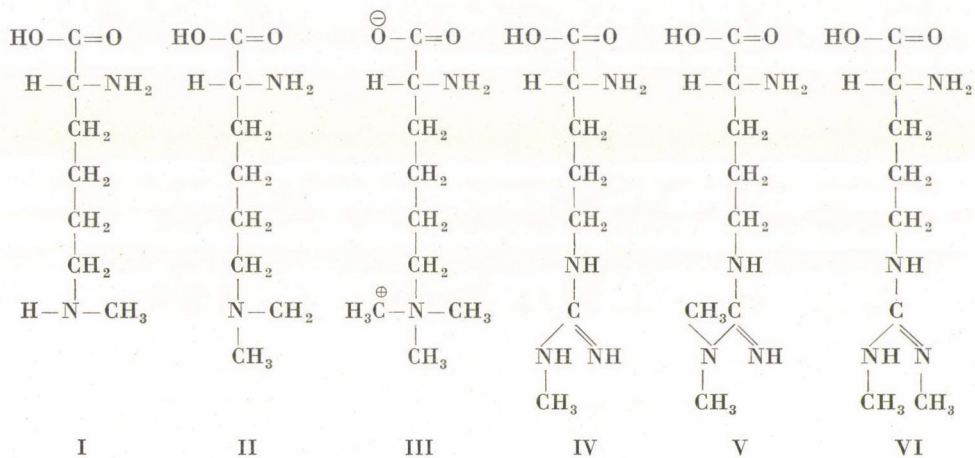
Az N^ε-metilezett lizinek és az N^G-metilezett argininek biológiai funkciója

A fehérje-metilezés biológiai jelentősége még általában tisztázatlan, csupán néhány előzetes tájékoztató adat birtokában vagyunk e feltételezhetően csak dinamikus és nem terminalis folyamat értelmezéséhez.

II. táblázat

Az N^{α} -metilezett lizinek és az N^G -metilezett argininek előfordulása az élő szervezetekben

Előfordulás helye		MML	DML	TML	MMA	DMA	DMA'	Izoláló(k) neve és a közlés éve
Szabad előfordulás								
Algák				+				Takemoto és mtsai, 1964—1965
<i>Reseda luteola</i> (termés)				+				Larsen, 1968
Felnőtt ember vizelete		+						Asatoor, 1969
Gyermek vizelete				+				Tyihák, 1969
Borjú thymus				+	+			Tyihák, 1969
Emberi plazma		+						Perry és mtsai, 1969
<i>Viscum album</i> (fagyöngy)		+	+	+				Tyihák, 1970
Felnőtt ember vizelete		+	+	+		+	+	Kakimoto és Akazawa, 1970
Borjú thymus és máj			+	+		+	?	Tyihák és Pathy, 1973
Kötött előfordulás								
	Fehérje							
<i>Salmonella typhimurium</i>	flagellin	+						Ambler és Rees, 1955
<i>Spirillum serpens</i>	flagellin	+	+					Glazer és mtsai, 1969
Thymus, búzacásra	histon	+						Murray, 1964
Thymus	histon	+	+					Paik és Kim, 1967
Thymus	histon	+	+	+				Hempel és mtsai, 1968
Borsócsíra	histon	+						Fambrough és Bonner, 1969
Búzacásra és <i>Neurospora</i>	citochrom c			+				DeLange és mtsai, 1969
Nyúlizom	miozin	+						Huszár és Elzinga, 1969
Nyúlizom	miozin	+		+				Kuehl és Adelstein, 1969
Patkánymáj	magfehérje				+			Friedman és mtsai, 1969
Amoeba	aktin							Weihing és Korn, 1970
Élesztő	citochrom c			+				DeLange és mtsai, 1970
<i>Viscum album</i> (fagyöngy)	histon	+	+	+				Tyihák, 1970
Nyúlizom	miozin	+		+				Hardy és mtsai, 1970
Thymus	histon				+			Paik és Kim, 1970
Patkányizom	miozin	+		+				Reporter, 1971
Patkányizom	miozin					+		Reporter és Corbin, 1971
Emberi agy	myelin				+		+	Baldwin és Carnegie, 1971
Borjúagy	fehérjefrakció				+	+	+	Nakajima és mtsai, 1971
Emberi agy	myelin A1 fehérje				+	+		Brostoff és Eylar, 1971
Növényi (cékla)	bázikus fehérje				+	+	+	Tyihák és mtsai, 1972—1974



A hisztonok közül az F2a₁ és F₃ arginingazdag hisztonok metileződnek elsősorban és viszonylag csekély a metilezés a sejtciklus alatt, viszont a G₂-fázisban a metilezés hirtelen megkétszereződik (Paik és Kim, 1971). A metilezett hisztonok részletes aminosav analízise azt mutatta, hogy a metilezésben a mitózis alatt bekövetkező változások elsősorban a lysin ϵ -NH₂-csoportján következnek be, míg az arginin guanidino csoportjainak a metilezése változatlan marad. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a hisztonok specifikus metilezése lehet az egyik olyan faktor, amely a DNS derepressziójához vezet a mitózis előtt.

A mikrobiális és növényi citochrom C-ben a TML jelenlétét először DeLange és mtsai (1969. és 1970) állapították meg, éspedig a búzacsíra citochrom C-ben 2 molekula TML-t, a *Neurospora crassa* citochrom C-ben 1 molekula TML-t találtak. Másoknak sikerült bizonyítani, hogy a citochrom C-nek két formája lehetséges a *Neurospora crassa* mi-1 mutánsában; a C_I és C_{II}, mégpedig a C_{II} keletkezik először, s ebben a 72-es helyzetű lizin szabadon van, míg a C_I formában a 72-es helyzetben TML található (Scott és Mitchell, 1969). A 72-es helyzetű lizin lehet a felelős a citochrom C és a citochrom oxidáz közötti kölcsönhatásért. A C_{II} forma metilezése pedig elősegítheti a citochrom C kötődését a mitochondriumhoz (Okunuki és mtsai, 1965).

Nagyon érdekes, hogy a legkülönbözőbb metilezett bázikus aminosavak előfordulnak az izom fehérjeiben, mint a 2. táblázatban láthatjuk. Ennek a megfigyelésnek nagy jelentősége lehet, de biológiai szerepe eddig ismeretlen.

Tanphaichitr és Broquist (1973) az utóbbi időben a *Neurospora* és a patkány esetében azt bizonyították, hogy a zsírsavanyagcserében alapvető szerepet játszó carnitin a következő séma szerint keletkezik lizinből: lizin $\rightarrow$ TML $\rightarrow$ γ -butirobetain $\rightarrow$ carnitin. Ez a reakcióút is azt bizonyítja, hogy a metilezett fehérjéből felszabaduló, vagy szabad lizinből szintetizálódó TML-nek több nagyon fontos szerepe lehet az élő szervezetekben.

Az N^ε-metilezett lizinek és az N^G-metilezett argininek biológiai aktivitása

A különböző metilezett, bázikus aminosavak megtalálhatók szabadon az agyban, plazmában, a thymusban, a vizeletben, valamint a legkülönbözőbb biológiai objektumokban (2. táblázat). Ezek az aminosavak az eddigi ismereteink szerint a metilezett fehérjék bomlásakor szabadulnak fel.

A szabadon előforduló N^ε-metilezett lizinek és az N^G-metilezett argininek biológiai funkciójáról a legutóbbi időkig nem tudtunk semmit. Tény, hogy egyes esetekben jelentős mennyiségben mutathatók ki az egyes biológiai objektumokban, amiből arra lehet következtetni, hogy általában az élő sejtekben csekély demetilezési folyamattal lehet számolni a metilezett, bázikus aminosavak vonatkozásában. A jelentős mennyiségi előfordulás különösen az

emberi vizelet esetén figyelemre méltó, amelyben pl. az N^G -metilezett arginin mennyisége külön-külön is legalább 30%-kal nagyobb, mint maga az arginin (Kakimoto és Akazawa, 1970).

A metilezett, bázikus aminosavak közül először a *Laminaria angustata* tengeri algából izolált és lamininnek nevezett, később a TML-el azonosított aminosav vérnyomáscsökkentő hatását sikerült bizonyítani (Takemoto és mtsai, 1964). Más vérnyomáscsökkentő hatású kvaterner aminokhoz képest csekélyebb toxicitása miatt nagyobb dózisok adagolását is lehetségesnek tartják (Takeda Chemical Ltd, 1966).

Szende és mtsai (1970, 1972) a három N^G -metilezett lizin tumornövekedést serkentő hatását állapították meg, amelyek közül azonban a TML hatása a legfigyelemreméltóbb. A TML tumorserkentő hatását a sejtpopulációs kinetika különféle paramétereinek a meghatározásával sikerült követni. Már 5–10 mg/kg TML egyszeri ill. több alkalommal történt adagolása után emelkedett az NK/Ly ascites-tumort hordozó egerek tumorsejt-száma, fokozódott az oszló sejtek aránya.

Autoradiografiás vizsgálatokkal a jelölődési index emelkedését, a sejtciklus-idő és ezen belül a G_1 fázis tartamának a csökkenését sikerült megállapítani (Kopper és mtsai, 1971). Figyelemre méltó az is, hogy az in vitro tenyésztett Yoshida és L 5178Y sejtek esetében a telepformáló képességet 50 μ g/ml TML-kezelés fokozni tudta (Szende és mtsai, 1972).

A TML-el kezelt daganatok sejtejének morfológiai képe tükrözi a kezelés hatására végbement functionális változásokat. Így megfigyelhető a cytológiai kép fokozott polymorfiája, többmagvú és óriás magvú sejtek gyakoribb megjelenése, a sejtmagvak kromatin-tartalmának egymástól fokozottabban eltérő volta. Ultrastrukturális vizsgálatokkal számos daganatsejtben a magcytoplasma közötti anyagtransport fokozódására utaló jelet sikerült találni, továbbá megfigyelhető volt a nucleolusok megnagyobbodása is (Szende, 1973).

Általános biológiai szempontból különösen jelentősek azok az eredmények, amelyeket egészséges Swiss és C_{57} Bl egerek TML-el történt kezelésével sikerült kapni. Főként a máj és a lép reagált a kezelésre, súlygyarapodással, valamint kórszövettani és karyometriai vizsgálatok alapján, sejtmagvak átmérőjének növekedésével, fokozott sejtoszlási tevékenységgel, valamint a lépек esetében a folliculusok kiszélesedésével (Szende, 1973).

Abból a kísérleti tényből kiindulva, hogy a TML a daganatsejt-populáció ún. „nyugvó” sejtejének egy jelentős hányadát DNS synthesisre, majd oszlásra kényszeríti, legújabbán azt is sikerült bizonyítani, hogy a TML egyszeri kezelés hatására (5 μ g/ml és 25 μ g/ml) a thymus dependens lymphocyták egy része blastosan átalakul (Stotz és mtsai, 1974). Különösen jelentősnek nevezhető, hogy a TML nemcsak a folyamatosan proliferáló daganatsejt-populációk, hanem „nyugvó” sejttrendszer, mint a humán lymphocyták esetében is képes a sejteket a sejtciklus aktív fázisába kényszeríteni.

A három N^e -metilezett lizin közül a DML jelentős serkentő hatást mutatott dohányyszövetek növekedésére is, a lizingazdag (Fl) hiszton-frakció számottevő csökkenésével egyetemben (Tyihák és mtsai, 1971). Ez utóbbi eredmény egyezést mutat az állati tumorsejtpopuláció TML-el történt kezelésénél kapott adatokkal (Kopper és mtsai, 1971).

A vázlatosan ismertetett kísérleti adatok tehát arra utalnak, hogy az N^e -metilezett lizinek hatására daganatos és nem daganatos sejtpopulációk ún. „nyugvó” állapotban levő sejtjeinek egy része ismét a DNS-synthesis, majd a sejtoszlás fázisába kerül.

Az L-lizin és az L-arginin már előzőekben vázolt antagonisztikus funkcióját figyelembe véve, jogosnak látszik a kérdés, hogy a guanidino-metilezett argininek milyen hatást fejtenek ki a különböző sejtpopulációkra. Tyihák és mtsai (1974) az MMA és a DMA' jelentős növekedést gátló hatását állapították meg dohány-szövettenyészetekben, az agar-agar táptalajhoz 10—100 ppm koncentrációban adagolva. Sikerült bizonyítaniuk, hogy a táptalajból, de a szövetekből is 62 napos kezelés után az N^G -metilezett argininek bomlás nélkül izolálhatók. Az N^G -metilezett argininek jelentős gátló hatást mutattak agar-agar táptalajhoz adagolva a saláta (*Lactuca sativa* L.) csíranövény gyökerének növekedésére is (Német és mtsai, 1973), de a folyamatban levő széleskörű vizsgálatok adnak egyértelmű választ az N^G -metilezett argininek teljes biológiai értékére.

Az L-lizin és az L-arginin esetén kapott változásokkal szemben metilezett származékaik az alapvegyület hatásával ellentétes hatást mutatnak, azaz úgy látszik, adagolásukkal befolyásolni tudjuk a lizin—arginin antagonizmust.

Az N^e -metilezett lizinek és az N^G -metilezett argininek valamint a „promin” ill. a „retin” azonosságának a lehetősége

Az elmúlt évtizedekben számos munkacsoport kísérelt meg egészséges szövetekből természetes növekedést reguláló faktorokat tisztán elkülöníteni, hogy ezzel tumornövekedést gátló anyagokhoz jusson (Kelly és McDowell, 1948; Nutini és Lynch, 1964). Ez a törekvés sok kudarc után néhány esetben tiszta anyag (L-asparaginaz) (Broome, 1963), míg az esetek többségében frakció (faktor) előállításához (pl. chalonok) (Bullough és Laurence, 1960) vezetett. Megfigyelhető azonban e munkák során, hogy a szerzők egy része csak tumornövekedést serkentő hatású, míg mások csak tumornövekedést gátló faktort izoláltak a vizsgált objektumból, s azt igyekeztek azután tisztán előállítani (Paschkis, 1958; Kuru és mtsai, 1962; Bárdos és mtsai, 1968).

Az egészséges borjú thymusból Szent-Györgyi és mtsai (1962) már két, egymással ellentétes hatású frakciót izoláltak, amelyek közül az egyik serkenti a rosszindulatú daganatok növekedését, s prominnek nevezték el, míg a másik anyag, a retin visszatartja azt. Ez a megfigyelés új elemet vitt az eddigi

ilyen kutatásokba, hiszen ezzel sikerült jelentősen megközelíteniük az egészséges szövetekben mások által is feltételezett és keresett, két antagonisztikus hatású anyag, vagy anyagsorozat elkülönítését. E frakciókból azonban az aktív anyagok tiszta előállítása és egyértelmű azonosítása az elmúlt egy évtized alatt sem sikerült senkinek.

1964-ben előadásban, majd közleményben számoltunk be a cékla (*Beta vulgaris* var. *conditiva*) tumorbefolyásoló hatású „metilező komplexéről” (Tyihák, 1964). Később sikerült megállapítani, hogy a cékla daganatellenes anyagai bázikus fehérjék (Tyihák és Szende, 1967—1970), melyek egyrészt N^ε-metilezett lizineket, másrészt N^G-metilezett agrinineket tartalmaznak (Tyihák és mtsai, 1973—1974). E vegyületekkel (aminosavakkal és fehérjékkel) kapott tumorgátló ill. tumorserkentő hatásokból, továbbá néhány módszertani megfontolásból eredően előbb feltételeztük (Tyihák, 1972), de a borjú thymus és máj vizsgálatok alapján (Tyihák és Patthy, 1973) (mindkét objektumban megtaláltuk szabadon az N^ε-metilezett lizineket és az N^G-metilezett arginineket) már nem zárható ki annak a lehetősége, hogy a „promin” az N^ε-metilezett lizinekkal, míg a „retin” az N^G-metilezett argininekkel azonos.

Azt mondhatjuk ugyanis, hogy a „retin”-nel eddig azonosítani próbált valamennyi vegyülettel, mégpedig a metilglioxállal (IX) (Együd, 1965), a 3-deoxi-D-glukozulózzal (X) (Fodor és mtsai, 1967), a „free” retinnel (XI) (Marmasse, 1966), a dehidro-ascorbinsavval (XII) (Edgar, 1969) szemben az N^G-metilezett argininek (IV, V, VI) kielégítik az eredeti „retin-kritériumokat”, míg az N^ε-metilezett lizinek (I, II, III) az eredeti „promin” kritériumait, és pedig az eredeti papírkromatográfiás rendszerben (Szent-Györgyi és mtsai, 1962) az N^G-metilezett argininek 0,15—0,24 R_f-érték tartományban találhatók, mint a „retin”, míg az N^ε-metilezett lizinek (a „promin”) a start körül helyezkednek el; a lizin és az arginin, de főleg a metilezett származékaik erősen savas közegben reineckatot képeznek, N-tartalmúak, nagyon hasonló szerkezetűek, kismolekulásúak; az arginin maga is, de még inkább guanidino-metilezett származékai bomlékonyak, labilis csoportot tartalmaznak, érzékenyebbek alkáliakkal, mint savakkal szemben.

A „retin” és a „promin” előfordulását az izom fehérjeiben (Szent-Györgyi és mtsai, 1962), valamint az emberi vizeletben is leírták (Hegyeli és mtsai, 1963), de ma már tudjuk, hogy ezekben az objektumokban mind az N^G-metilezett argininek és mind az N^ε-metilezett lizinek előfordulnak (2. táblázat).

Feltételezhető, hogy a metilezett bázikus aminosavak — főleg nagy stabilitásuk miatt (Thomas és mtsai, 1972; Tyihák és mtsai, 1974) — fontos részét képezik a természetes növekedést reguláló rendszernek, amelynek lényeges eleme a monomer és polimer szintű lizin—arginin antagonizmus.

Összefoglalás

1. Kísérletesen bizonyítottanak tekinthető, hogy a fehérjéket felépítő aminosavak közül az L-lizin és az L-arginin az élő szervezetek számára különösen fontos. Ez a két bázikus aminosav a különböző biológiai rendszerekben lejátszódó molekuláris kölcsönhatásokban — speciális szerkezetükből eredően — eltérő reakciókészséget mutat, ami nagyrészt magyarázza egymással megosztott, sőt antagonisztikus funkcióikat.

2. Különösen figyelemre méltó, hogy a lizin és az arginin közötti antagonisztikus kapcsolat makromolekuláris szinten is jelentkezik, ami elsősorban a kromatin nukleoproteidjeinek fehérjerésztét képező hisztonok, ill. protaminok felépítésében, eltérő reakciókészségében, továbbá biológiai funkciójában nyilvánul meg. Ezen bázikus fehérjék biológiai funkciójának alaposabb ismerete választ adhat — többek között — az élő szervezetekre jellemző növekedésszabályozás eddig ismeretlen tényezőire. Ennek szisztematikus, a lizin—arginin antagonizmust figyelembe vevő tanulmányozását azonban jelentős mértékben gátolja, hogy eddig az argininben különösen gazdag protaminokhoz hasonlóan nem sikerült polilizin jellegű bázikus fehérjéket izolálni az élő szervezetekből. A szintetikus polilizinek ezt a hiányt csak részben pótolják, mert nyilvánvaló, hogy az általunk is feltételezett természetes polilizinek izolálása és változatos felépítésük megismerése vihet közelebb bennünket a monomer- és polimer szintű lizin—arginin antagonizmus megértéséhez.

3. A fehérjék, közöttük a bázikus fehérjék, finom szerkezetében jelentős változásokat eredményeznek a funkciós csoportok enzimatiszta úton történő módosításai. E fehérje-módosító reakciók közül jelentősnek nevezhető az enzimatiszta fehérjemetilézés, amelynek eredményeként elsősorban a lizin és arginin N^{ϵ} -, illetve N^G -metilezett származékai keletkeznek. Ezek az aminosavak a módosított fehérjék bomlásakor szabadulnak fel, s így szabad előfordulásukkal az élő szervezetekben általánosan számolni kell.

4. Mind a kötött, mind a szabad metilezett bázikus aminosavak biológiai funkciója gyakorlatilag még ismeretlen. Egyáltalán nem tisztázott, hogy a szabad és kötött metilezett bázikus aminosavak között milyen kapcsolat van, s azt sem tudjuk, hogy az N^{ϵ} - és N^G -metilezett aminosavak szabad lizinből, illetve argininből is szintetizálódhatnak-e. Ezért a lizin- és arginin metiláz, valamint esetleges dimetiláz enzimek feltételezhetően alapvető szerepet játszanak a lizint és arginint monomer és polimer szinten magában foglaló növekedést szabályozó rendszerben.

5. Az eddigi biológiai vizsgálatok szerint az N^{ϵ} -methylezett lizinek, de főleg a TML adagolásának hatására a daganatos és nem daganatos sejtpopulációk ún. „nyugvó” állapotban levő sejteinek egy része a DNS-synthesis, majd a sejtoszlás fázisába kerül. Az N^G -metilezett argininek előzetes vizsgálata pedig jelentős növekedésgátlást mutatott. Azt mondhatjuk tehát, hogy a

metilezett bázikus aminosavak különösen jelentős biológiai aktivitást mutatnak. Feltételezhető, hogy a metilezett bázikus aminosavak adagolásával befolyásolni tudjuk a lizin—arginin antagonizmust.

6. Az N^e-metilezett lizinek és az N^G-metilezett argininek előfordulásának és biológiai aktivitásának a felismerése több, eddig megmagyarázhatatlan hatás és jelenség értelmezését is elősegíti.

IRODALOM

- Ambler, R. P. és Rees, M. W.: *Nature* **184**, 56 (1959).
 Baldwin, G. S. és Carnegie, P. R.: *Biochem. J.* **123**, 69 (1971).
 Baret, R., Mourgue, M. és Broc, A.: *Bull. Soc. Pharm. Marseille* **15**, 111 (1966).
 Bárdos, T. J., Gordon, H. L., Chmielewicz, Z. F., Kutz, R. L. és Nadkarni, M. V.: *Cancer Res.* **28**, 1620 (1968).
 Bloch, D. P.: *Gen. Suppl.* **61**, 1 (1969).
 Bonner, J., Dahms, M. E., Fambrough, D., Huang, R. C., Marushige, K. és Tuan, D. Y. H.: *Science* **159**, 47 (1968).
 Boorman, K. N. és Fisher, H.: *Brit Poultry Sci.* **7**, 39 (1966).
 Broome, J. D.: *Exp. Med.* **118**, 99 (1963).
 Brostoff, S. és Eylar, E. H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* **68**, 765 (1971).
 Bullough, W. és Laurence, E.: *Proc. Roy. Soc.* **151**, 517 (1960).
 Carnegie, P. R.: *Biochem. J.* **123**, 57 (1971).
 Chang, S. M. és Sung, S. C.: *Bull. Inst. Chem. Acad. Sinica* **15**, 1019 (1968).
 Clark, R. J. és Felsenfeld, G.: *Nature New Biology* **240**, (103) 226 (1972).
 Comb, D. G., Sarkar, N. és Pinzino, C. J.: *Biol. Chem.* **241**, 1857 (1966).
 DeLange, R. J., Glazer, A. N. és Smith, E. L.: *J. Biol. Chem.* **244**, 1385 (1969).
 DeLange, R. J., Glazer, A. N. és Smith, E. L.: *J. Biol. Chem.* **245**, 3325 (1970).
 Doermann, A. H.: *Arch. Biochem.* **5**, 373 (1944).
 Dubes, G. R., Moyer, K. B., Helliburton, B. L., Van de Bogart, R. K.: *Acta Virol.* **13**, 8 (1969).
 438 V. O. K. 116. o. gresináné
 Eaton, M. D., Scala, A. R. és Birnie, H.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* **119**, 998 (1965).
 Edgar, J. A.: *Experientia* **25**, 1214 (1969).
 Együd, L. G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* **54**, 200 (1965).
 Fambrough, D. M. és Bonner, J.: *Biochim. Biophys. Acta* **175**, 113 (1969).
 Fodor, G., Sachetto, J. P., Szent-Györgyi A. és Együd, L. G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* **57**, 1644 (1967).
 Friedman, M., Shull, K. H. és Farber, E.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **34**, 857 (1969).
 Furuhashi, K. és Yatazawa, M.: *Plant and Cell Physiol.* **11**, 559 (1970).
 Glazer, A. N., DeLange, R. J. és Martinez, K. J.: *Biochim. Biophys. Acta* **185**, 164 (1969).
 Graffi, A., Butschak, G., Schneider, E. J. és Kuhn, W.: *Acta Biol. Med. German.* **15**, 826 (1965).
 Hardy, M. F., Harris, C. I., Perry, S. V. és Stone, D.: *Biochem. J.* **120**, 653 (1970).
 Hegyeli, A., McLaughlin, J. A. és Szent-Györgyi A.: *Science* **142**, 1571 (1963).
 Hempel, K., Lange, H. W. és Birkofer, L.: *Naturwiss.* **55**, 37 (1968).
 Huszár, G. és Elzinga, E.: *Nature* **223**, 834 (1969).
 Inglis, V. B. M.: *J. Gen. Virol.* **3**, 9 (1968).
 Jones, J. D.: *J. Nutr.* **84**, 313 (1964).
 Jones, J. D., Petersburg, S. J. és Burnett, P. C.: *J. Nutr.* **93**, 103 (1967).
 Jones, V. M. és Boulter, D.: *New Phytol.* **67**, 925 (1968).
 Kakimoto, Y. és Akazawa, S.: *J. Biol. Chem.* **245**, (1970).
 Kelly, T. A. és McDowell, M. A.: *Cancer Res.* **8**, 10 (1948).
 Kopper, L., Szende B., Lapis K. és Tyihák E.: *Neoplasma* **18**, 251 (1971).
 Kuehl, W. M. és Adelstein, R. S.: *Biochim. Biophys. Res. Commun.* **37**, 59 (1969).
 Kuru, M., Kosaki, G. és Watanabe, H.: *Gann* **54**, 119 (1962).
 Larsen, P. O.: *Acta Chem. Scand.* **22**, 1369 (1968).
 Leng, M. és Felsenfeld, G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* **56**, 1325 (1966).
 Lerch, B. és Stegemann, H.: *Landw. Forschg.* **23**, 181 (1970).
 Marmasse, C.: *Nature* **209**, 1346 (1966).
 Murray, K.: *Biochem.* **3**, 10 (1964).

- Nakajima, T. és Volcani, B. E.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **39**, 28 (1970).
 Nakajima, T., Matsuoka, Y. és Kakimoto, Y.: Biochim. Biophys. Acta **230**, 212 (1971).
 Németh K., Tyihák E., V. Csala M., Vágújfalvi D. és Patthy A.: XIV. Biokémiai Vándorgyűlés
 Előadásai, Szeged, (1973. szeptember 5.)
 Nickell, L. G. és Maretzki, A.: Physiol. Plant. **22**, 117 (1969).
 Nutini, L. G. és Lynch, E. M.: J. Exp. Med. **84**, 247 (1946).
 O'Dell, B. L. és Savage, J. F.: J. Nutr. **90**, 364 (1966).
 Okunuki, K., Wada, K., Matsubara, H. és Takemori, S.: in Oxidases and Related Redox System,
 T. E. King, H. S. Mason, M. Morisson, Eds. (Wiley, New York, 1965), Vol. 2, p. 549.
 Paik, W. K. és Kim, S.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **29**, 14 (1967).
 Paik, W. K. és Kim, S.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **27**, 479 (1967).
 Paik, W. K. és Kim, S.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **40**, 224 (1970).
 Paik, W. K. és Kim, S.: Science **174**, 114 (1971).
 Paschkis, K. E.: Cancer Res. **18**, 981 (1958).
 Pass, L. és Razynska-Bojanowska, K.: Acta Biochem. Pol. **16**, 297 (1969).
 Pillai, N. G. és Shanta, P.: Current Sci. **34**, 636 (1968).
 Pleskov, B. P. és Vil'yams, M. V.: Dokl. Tskha. **103**, 263 (1965) ref. in Chem. Abstr. **65**, 6243
 (1966)
 Pontecorvo, G., Roper, J. A., Hemmons, L. M., McDonald, R. D. és Bufton, A. W. J.: Advanc.
 Genet. **5**, 141 (1953).
 Reporter, M. és Corbin, J. L.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **43**, 644 (1971).
 Roberge, A. és Charbonneau, R.: Rev. Can. Biol. **28**, 1 (1969).
 Roess, W. B. és De Busk, A. G.: J. gen. Microbiol. **52**, 421 (1968).
 Rouse, H. C. és Schlesinger, W. R.: Virology **33**, 513 (1967).
 Saxinger, C., Ponnampertuma, C. és Woese, C.: Nature New Biology **234**, 173 (1971).
 Scott, W. A. és Mitchell, H. K.: Biochemistry **8**, 4282 (1969).
 Shapiro, J. T., Leng, M. és Felsenfeld, G.: Biochemistry **8**, 3219 (1969).
 Stocker, B. A. D., McDonough, M. W. és Ambler, R. P.: Nature **189**, 556 (1961).
 Stotz, Gy., Szende B., Lapis K. és Tyihák E.: Kísérletes Orvostudomány (közlés alatt).
 Szende B., Tyihák E., Kopper L. és Lapis K.: Neoplasma **17**, 433 (1970).
 Szende, B., Kopper L., Fox, M., Lapis K. és Tyihák E.: EACR Symposium on mechanism of
 action of cytostatic agents, Budapest, (1972).
 Szende B.: Kandidátusi disszertáció, Budapest, (1973).
 Szent-Györgyi A., Hegyeli A. és McLaughlin, J. A.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **48**, 1439 (1962).
 Takeda Chemical Ltd., 1 442 318 sz. Francia Szabadalom (bej. napja; 1964. november 20.; el-
 fogadás napja: 1966. május 9.)
 Takemoto, T., Takagi, N. és Daigo, K.: Yakugaku Zasshi **85**, 843 (1965).
 Takemoto, T., Daigo, K. és Takagi, N.: Yakugaku Zasshi **84**, 1176 (1964).
 Tanphaichitr, V. és Broquist, H. P.: J. Biol. Chem. **248**, (6), 2176 (1973).
 Tanphaichitr, V. és Broquist, H. P.: J. Biol. Chem. **248**, (6), 2180 (1973).
 Thomas, G., Lange, H. W. és Hempel, K.: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **353**, 1423 (1972).
 Tyihák E.: Naturwiss. **51**, 315 (1964).
 Tyihák E.: Proc. 10th Ann. Meet. Biochem., Esztergom (1969).
 Tyihák E. és Szende B.: 158 979 sz. Magyar Szabadalom (1967–1970).
 Tyihák E.: Herba Polonica **16**, 321 (1970).
 Tyihák E., Maróti M. és Vágújfalvi D.: Bot. Közlem. **58**, 85 (1971).
 Tyihák E.: Magy. Kém. Lapja **27**, (11) 549 (1972).
 Tyihák E., Molnár, Gy., Patthy A., Szende B., Kopper, L. és Lapis K.: Kézirat (1972–1974).
 Tyihák E., Maróti M., Vágújfalvi D., Bajusz S. és Patthy A.: Acta Agronom. Acad. Sci. Hung.
 (közlés alatt) (1974).
 Tyihák E. és Patthy A.: Acta Agronom. Acad. Sci. Hung. **22**, (3–4) 445 (1973).
 Tyihák E., Szende B., Patthy A., Lapis K., Sikos K.: közöletlen adatok (1973–1974).
 Wagner, K. G.: Europ. J. Biochem. **10**, 261 (1969).
 Weatherall, I. L. és Haden, D. D.: Biochim. Biophys. Acta **192**, 553 (1969).
 Wehling, R. R. és Korn, E. D.: Nature **227**, (5264) 1263 (1970).
 Zimmermann, E.: Angew. Chem. internat. Edit. **11**, (6) 496 (1972).
 Yuki, A. és Fox, S. W.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **36**, (4) 657 (1969).