

Az Orvosi Biológiai Intézet

80 éve

(1923 – 2003)



80 éves
a Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Orvosi Biológiai Intézete

A PTE ÁOK Orvosi Biológiai Intézet
jubileumi kiadványa

Pécs
2003

Felelős kiadó: Szeberényi József
Szerkesztő: Szeberényi József – Fábán Zsolt
Technikai munkálatok: Kissné Gombor Melinda
Nyomdai munkák: Ollmann Ágnes

A jubileumi ülés támogatói:

a Pécsi Akadémiai Bizottság
a PTE ÁOK rektora
Csertex Kft.
SIGMA/Aldrich Kft.
Olympus Kft.
Kasztel Med Kft.

Tartalom

Előszó	(Szeberényi József)	4
Visszaemlékezések és tudományos előadások		
Sragner Márta:	Gorka Sándor életútja	5
Komáromy László:	Mozaikok az Intézet életéből 1992-ig	10
Puppi András:	Egy senior visszaemlékezései	27
Molnár János:	Találkozások a modern biológiával	30
Sáfrány Géza:	Agydaganatok kezelése génterápiás eljárásokkal	37
Szeberényi József:	Az utolsó 11 év	45
Pap Marianna:	Túlélési és apoptotikus jelátvitel emlős sejtekben	58
Sétáló György:	Hősök fehérjék szerepe szteroid hormonok és növekedési faktorok jelátvitelében	65
80 éves az Orvosi Biológiai Intézet (Sétáló György)		68
Függelék		
Sragner Márta:	Gorka Sándor bibliográfiája	69

Előszó

1919. szeptemberében a pozsonyi Erzsébet Tudományegyetem hontalanná vált: ingatlanait elfoglalták, ingóságainak nagy részét elvették, tanári karának el kellett hagynia az egyetemet. Az orvoskar, az ugyancsak földönfutóvá vált kolozsvári egyetem orvoskarával együtt, az 1920/21-es tanévben Budapesten kezdte újra az oktatást, igen szűkös körülmények között. A nemzetgyűlés 1921-es döntése értelmében a pozsonyi egyetem Pécsre költözött és 1923. október 24-én az új székhelyen megkezdődött az oktatás. Gorka Sándor ny. r. tanárt orvosi biológiai tanszék szervezésével és vezetésével bízták meg. Az Erzsébet Tudományegyetem Pécsre költözésének 80 éves évfordulójára rendezett ünnepségsorozat keretében 2003. szeptember 17-én a PTE ÁOK Orvosi Biológiai Intézete és a Pécsi Akadémiai Bizottság Biológiai Szakbizottságának közös rendezésében ünnepi ülést tartottunk a PAB Székházában. Jubileumi programunk fő célja az ország első biológiai intézete születésének megünneplése volt. A visszaemlékezésen kívül azonban arra is felhasználtuk az alkalmat, hogy beszámoljunk az intézet elmúlt évtizedeinek munkájáról, nehézségeiről, eredményeiről. Ünnepi programunk részét képezték azok a tudományos előadások is, melyekben intézetünk korábbi és jelenlegi jeles képviselői mutatták be kutatómunkájuk eredményeit.

Köszönetemet fejezem ki dr. Lénárd Lászlónak, a PTE ÁOK rektorának, dr. Nagy Juditnak, az ÁOK tudományos dékánhelyettesének, dr. Méhes Károlynak, a PAB elnökének és dr. Szabó Lászlónak, a PAB Biológiai Szakbizottsága elnökének, hogy jelenlétükkel és köszöntő szavaikkal emelték a rendezvény ünnepélyességét. Hálás vagyok dr. Benke Józsefnek, a PTE ÁOK Egyetemi Múzeuma igazgatójának az intézet múltjáról adott értékes információkért. Köszönöm az előadóknak, hogy időt és energiát fordítottak visszaemlékezéseik elkészítésére és bemutatására. Végül természetesen hálás vagyok minden vendégünknek, hogy meghallgatták programunkat, jelenlétükkel megtisztelték jubileumi ünnepségünket.

Szeberényi József

Gorka Sándor biológus életútja

Sragner Márta

Csorba Győző Megyei Könyvtár, Pécs

Gorka Sándor 125 éve, 1878. október 12-én született Ungváron. Ősei igen előkelő lengyel nemesek voltak, innen származik a "levivai" előnév. Apja Gorka Leo telekkönyvvezető, anyja Nachly Anna háztartásbeli volt.

Általános-iskolai és gimnáziumi tanulmányait szülővárosában Ungváron végezte, 1896-ban kitűnően érettségizett. Ezután a budapesti Ferenc József Tudományegyetem bölcsészeti karára iratkozott be. Továbbtanulása majdnem meghiúsult, mert édesapja meghalt, szerencsére az ekkor elnyert 300 aranyforintos Ferenc József- és Erzsébet-ösztöndíj fedezte tanulmányainak költségeit. A kötelező állattan- és növénytan tárgyakon kívül embertani, filozófiai előadásokat, az orvoskaron anatómiát és élettant is hallgatott. Az 1899/1900-as tanév első félévében még rendes, a második félévben már rendkívüli hallgató lett, mert második tanársegéddé nevezték ki az egyetem zoológiai és comparatív anatómiai intézet és múzeumába. Még 1899-ben Margó-díjat kapott "A rovarok tápcsövé"-ről írt dolgozatáért.

1901-ben zoológia fő, botanika- és ásványtan melléktárgyakból summa cum laude bölcsészdoktorrá avatták. A következő évtől Entz Géza professzor első tanársegéde lett. 1907-ben már a Kir. M. Pázmány Péter Tudományegyetem helyettes első tanársegéde. Ebben az évben megnősült, az olasz származású Pittoni Edit rajztanár-festőművészt vette feleségül. Ekkor költöztek a Természettudományi Társulat épületében lévő lakásba. Három gyermekük lett, egy lány és két fiú.

1910-ben nevezték ki egyetemi adjunktussá, magántanárrá 1913. október 28-án habilitálták "A felsőbbrendű gerinctelen állatok anatómiája és élettana" tárgykörből. 1914-től 1920-ig a Tudományegyetemen a zoológia- és a gyógyszerészeti állattan helyettes tanára, a zoológia-, összehasonlító bonctan- és gyógyszerészeti állattan jogosított tanára, az orvostudományi kar jegyzője, az Állattani és Összehasonlító Bonctani Intézet vezetője volt.

1918-ban másodszor is Margó-díjjal tüntették ki "A hazai édesvízi kagylók kopolyájának és ínyvitorlájának szerepe a táplálkozásban" című dolgozatáért.

Az 1912-ben Pozsonyban létesített Erzsébet Egyetem, vagyona nagy részét hátrahagyva 1919 őszén Budapestre települt át, ahol több évig, igen szűkös körülmények között az Állatorvosi Főiskola épületében működött. Gorka Sándor 1920-ban lett az Erzsébet Tudományegyetem magántanára, helyettes tanár, kórtani intézeti adjunktus. Már 1921-ben megbízást kapott, hogy az orvoskaron szervezze meg a biológiaoktatást.

A menekült intézmény természetesen nem működhetett éveken át Pesten. Pécs városával sikerült megegyezni, hogy a püspökség épületeket bocsát az egyetem rendelkezésére. A költözés 1923 nyarára fejeződött be. Gorka május 11-én érkezett a városba, és szeptember 1-én nevezték ki nyilvános rendes tanárrá, az orvoskari biológia tanszékre. Az országban elsőként szervez oktatási intézményben Biológiai Intézetet, amelynek 1944-ben bekövetkezett haláláig igazgatója volt. A Rákóczi úti épületben, 3 helyiségben működő intézetnek, 1940-ig csak 1 tanársegédi státusza volt. Ezután jelentősen bővült intézménye, így



GORKA SÁNDOR
(1878-1944)

Gorka Sándor kiterjedt jegyzetanyagát, amely előadásainak alapja volt, rendszerezni tudta.

Gorka csak fiatal korában végzett laboratóriumi munkát, a rovarok bonctanával foglalkozott, "Anatómiai és élettani adatok a bogarak Malpighi-edényei működésének megítéléséhez" címen monográfiát írt. Később már nem kísérletezett, ezért az intézetben igen kevés volt a laboratóriumi tárgy. Az igazi értéket a tanszéki könyvtár jelentette, amelynek gyarapítására a költségvetésből igen keveset fordítottak. Állománya viszont szépen növekedett Tóth Lajos államtitkár hagyatékából és a professzor saját zsebéből.

Tanított biológiát az orvoskaron, a bölcsészet-, nyelv- és történettudományi karon és a Tanárképző Intézetben is. Gorka igen részletes oktatási programot dolgozott ki, ennek alapján tanított heti 5 órában kötelező kollégiumként, szigorlati kötelezettség nélkül, általános biológiát elsőéveseknek, 2-2 órában fejlődéstant és örökléstant másodéves medikusoknak. Kizárólag tantermi előadásokat tartott, laboratóriumi gyakorlatokat nem vezetett. Egyetemi előadásaiban bevezetőként meghatározta a biológia helyét a tudományok rendszerében, definiálta az élet jellemző jelenségeit, feltételeit, majd rátért az ökológiai vonatkozásokra. Mindezekkel és az élővilág rendszertanát bemutató táblázatos áttekintésekkel, alapos biológiai szemléletet nyújtott az általa nevelt orvosnemedékeknek.

Budapesti lakását haláláig fenntartotta, családjá ott élt, csak vasárnap estétől péntek délutánig tartózkodott Pécsen. Hétfégenként otthon szerkesztette a Természettudományi Közönyt.

Az 1936-1937-es tanévben orvoskari dékán, a következő tanévben prodékán valamint az orvosi szigorlati bizottság elnöke vegytan, természettan, kórbonctan, általános bőr- és nemikórtan tárgyakból és gyógyszerantából.

1938-tól titkára, a következő tanévtől főtitkára volt az Erzsébet Egyetem Baráti Egyesületének, kari jegyző a dékáni hivatalban, az egyetemi Könyvtárbizottság tagja és Sopronban a Hittudományi Karon társkari előadásokat is tartott.

1942. október 29-étől vezette a M. Kir. Erzsébet Tudományegyetem Tóth Lajos orvoskari könyvtárát. Egy nappal később október 30-án megbízták az Élettani Intézet igazgatásával is. Ez utóbbi feladatot 1943. február 24-ig látta el.

Gorka Sándor 1944. április 10-én halt meg 66 éves korában a pécsi belklinikán, veseelégtelenségben. A város temetőjében nyugszik az A parcella XXVI. sor 30-as sírjában. Halála után intézete a szomszédos Élettani Intézet kezelésébe került, mindig megtartva a külön kollégiumokat.

Gorka Sándor a klasszikus értelemben vett elméleti biológus volt, aki hihetetlen alaposággal és felkészültséggel vette művelés alá a hazai biológiaoktatást. Felkészültségével uralta a korabeli zoológiát és botanikát, igen alaposan ismerte a genetikát, a származástant és sejtant. Viszont alig vett tudomást, a korában már rohamosan kibontakozó biokémia egzakt eredményeiről.

Társadalmi konzervativizmusa ellenére modern biológiai világnézetet hirdetett, nem dogmatikus formában, inkább objektivitásra törekvő liberalizmussal.

Gazdag irodalmi munkásságot fejtett ki. Első írása 19 éves korában, 1897-ben, a Természettudományi Közlönyben jelent meg. Kitaró szorgalmának eredménye, hogy élete során több mint 800 hosszabb–rövidebb műve, tanulmánya, cikke és közleménye jelent meg nyomtatásban. Írásai, szaktudománya mellett, kivételes egyetemes tudásról tanúskodnak. Sohasem szakadt el az élettől, erős gyakorlati érzéke volt. Szép magyar nyelven, közérthető stílusban közvetítette a legelvontabb kutatások eredményeit.

Nagy munkabírása, kitaró szorgalma tette alkalmassá arra, hogy pedagógiai-, írói munkásságán kívül, jelentős közéleti tevékenységet is folytasson. Húsz éven át dolgozott a Természettudományi Társulat felvirágoztatásán, a Természettudományi Közlöny népszerűsítésén. Már 1896-tól választmányi tagja volt a Királyi Magyar Természettudományi Társulatnak, 1906-ban másodtitkárrá, 1914. február 25-én megtartott közgyűlésen pedig, első titkárrá választották. 1923 őszén mondott le megbízatásáról, amikor az egyetem Pécsre költözött. 1925 júniusáig intézte még a társaság ügyeit. 1940-ig választmányi, haláláig örökös tag, és a Könyvkiadó Bizottság tagja. 1906. január 24-étől 1925. július végéig volt a Természettudományi Közlöny szerkesztője, Ilosvay Lajos, id. Entz Géza, Csöprey László, Lengyel Béla és Nuricsán József társaságában.

Az 1899. december 2-án alakult Kis Akadémiának működése negyedik évétől volt tagja, vezetőségi tagja később ügyvezetője, tiszteletbeli ügyvezetője. Első előadását 1902. november 24-én tartotta "A termékenyítés problémája" címmel. A Kis Akadémia fennállásának 30 éves évfordulója alkalmából rendezett jubileumon 1929. február 3-án "Az élő szervezetek mivoltáról" beszélt. Az 1000-dik előadást is ő tartotta 1941. március 8-án, "Az élő szervezetek szabályozó és irányító ható-anyagai (ergonok, biokatalizátorok)" címmel.

Tagja volt a Révai Nagy Lexikon szerkesztőbizottságának, ebben a tisztségében az 1927-ben megjelent 20-dik kötet rovarani, madártani szócikkeit írta. Az 1925. február 10-én megalakult Egyetemi Tudományos Szövetségnek főtitkárává választották. Az Egyetemi Tanácsnak tagja, természettudományi és egészségügyi társulatának alelnöke volt.

Sokirányú tudományos- és közéleti tevékenységét igazolja, hogy a felsoroltakon kívül tagja volt még; a német Allgemeine Entomologische Gesellschaft-nak, a Magyar Balneológiai Társaságnak, a Magyar Társadalomtudományi Egyesületnek, a Magyar Filozófiai Társulatnak, az Országos Közegészségügyi Egyesületnek, a Magyar Szakírók Országos Egyesületének, a Magyar Entomológiai Egyesületnek, a Magyarhoni Földtani Társulatnak, a pécsi székhelyű Mecsek Egyesületnek, a Magyar Keleti Kultúrközpont Közművelődési Szakosztályának és Könyvkiadó Bizottságának, a Magyar Fajegészségtani- és Népesedéspolitikai Társaságnak, a Felsőoktatásügyi Egyesület természettudományi szakosztályának, a Stella Csillagászati Egyesületnek, az Országos Természettudományi Tanács és Alap Intézőbizottságának, a Magyar Adria Egyesületnek, a Magyar Tudományos Társulatok és Intézmények Sajtóvállalatának, a budapesti Kir. M. Egyetemi Nyomda valamint a Dunántúl Pécsi Egyetemi Könyvkiadó és Nyomda R. T. igazgatóságának, az Országos Felsőoktatási Tanácsnak, az Országos Ösztöndíjtanács intézőbizottságának, a Széchenyi Tudományos Egyesület szenátusának, az Országos Gyógyszerész Egyesületnek és a szekszárdi "Vas Gereben" irodalmi és művészi körnek.

1912-ben a Magyar Orvosok és Természetvizsgálók Vándorgyűlése központi választmányára lett titkára. 1914-ben majd 1917-ben megbízták a zoológus kongresszusok megszervezésével. 1927-ben is megválasztották a Nemzetközi Zoológus Kongresszus főtitkárává, de a rendezvény megkezdése előtt lemondott.

1921-ben tevékenyen részt vett a Tudományos Társulatok és Intézmények Országos Szövetségének megszervezésében. Az 1926-ban egybehívott természet-, orvos-, műszaki- és mezőgazdaság tudományi országos kongresszusnak főtitkára volt, s ezen tisztségében összeállított a rendezvényről két kiadványt.

A Természettudományi Közlöny szerkesztésén kívül 1902-től a Zoologische Zentralblatt magyarországi munkatársa lett. 1922-től 1926 végéig szerkesztette a Felső Oktatásügyi Egyesület Közleményét, 1926-tól az Orvosi Hetilap sajtóbizottságának is tagja volt. 1936-tól 1943-ig ő állította össze az Erzsébet Tudományegyetem Almanachját, 1941 januárjától haláláig a Pannónia című folyóiratot, 1942-től a Pannónia Könyvtár sorozatot, valamint a Műveltség könyvtára sorozat néhány kötetét.

Szinte lehetetlen felsorolni, hogy Gorka Sándor életének 66 éve alatt mennyi mindent tett, hány egyesületnek, társulatnak, társaságnak volt tagja, vezetője. Mennyi összejövetelnek résztvevője, fáradhatatlan szervezője és mozgatórugója.

Ezt a tartalmas életutat próbáltam röviden végigkövetni jelen munkámban. Sokkal részletesebben olvashatnak életéről és tevékenységéről abban a bibliográfiában, amelyet szerkesztettem, s ennek a jubileumi kiadványnak függelékét képezi. A bibliográfia célja felhívni a figyelmet Gorka Sándorra, arra a kiváló biológusra, oktatóra, aki 1921-ben, az országban először szervezte meg a biológia-oktatást orvosi egyetemen, és 80 évvel ezelőtt elsőként létesített Biológiai Intézetet Magyarországon, Pécsen, a Magyar Királyi Erzsébet Tudományegyetemen.

Mozaikok az Intézet életéből 1992-ig

Komáromy László

**Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Biológiai Intézet**

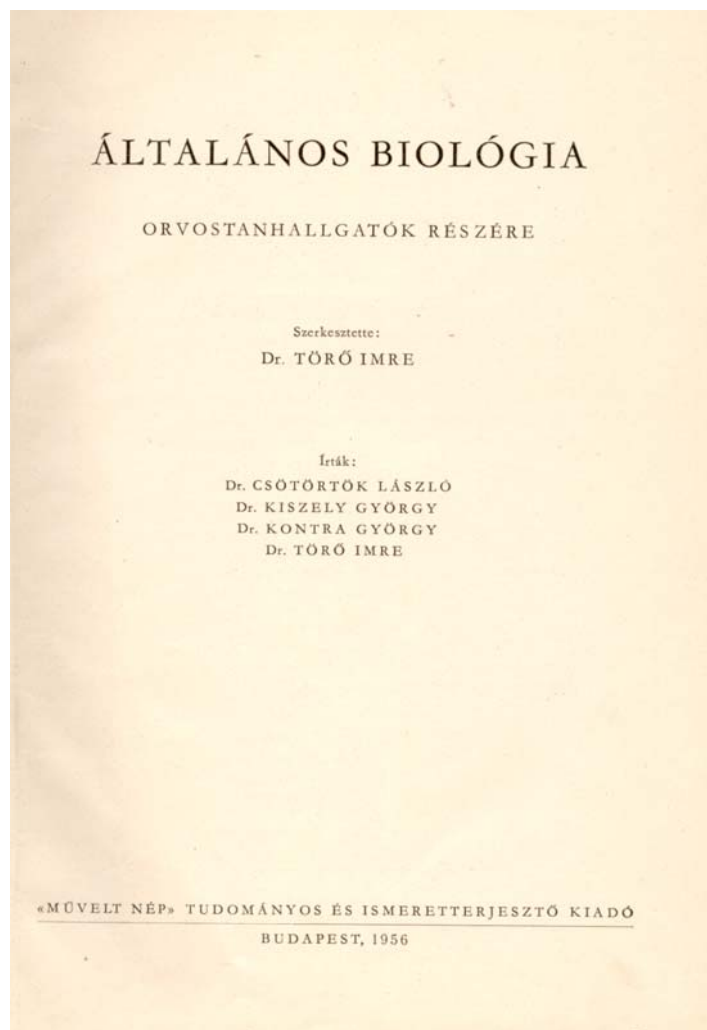
Megtisztelő lehetőségem és feladatomban, hogy az Erzsébet Tudományegyetem Pécsre telepítésének 80. évfordulóján részese lehetek a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kara Biológiai Intézetének megalakulása alkalmából rendezett ünnepi ülésnek. Különösen nagy megtiszteltetés, hogy az Orvosi Biológiai Intézet Gorka professzort követő időszakától kezdődően az 1992-ig tartó életének, működésének, útkeresésének folyamatáról beszélhetek, emlékezhetek az igen tisztelt jelenlétükkel együtt, akik közül sokan az eltelt 80 év különböző periódusaiban, hosszabb-rövidebb ideig, különböző szinteken és formákban részesei voltak az intézet ezen időszakának. Kérem emlékezzünk együtt, mert közös feladatunk a múlt mentése a mának és a jövőnek!

A múlt felidézése, a mozaikok keresése a dolgok természetéből következően nem lehet teljes, minden részletre kiterjedő a részemről, kiegészítik, teljesebbé teszik viszont majd a soron következő előadások, melyek ezt az időszakot további oldalairól fogják felidézni, melyben intézetünk mai életének gyökerei kereshetők, melyek mai kiteljesedésének nélkülözhetetlen előzményei voltak. A múlt felidezéséhez Tigyi József akadémikus úrtól, Studinger Ferencné laboratóriumi asszisztentstől és Szabó László főorvos úrtól kaptam értékes adatokat, melyekért ezúttal is köszönetet mondok.

Az 1923-ban alapított Orvosi Biológiai Intézet Gorka professzor halálát követően, 1944-ben az egyetem Élettani Intézetébe inkorporálódott, így a Biológiai Intézet igazgatója Lissák Kálmán professzor úr lett, s igazgatása alatt működött 1970-ig. 1944-ben az orvosi biológia oktatásával Lissák professzor Dr. Kanizsai Lászlót bízta meg. Kanizsai László rövid idejű tevékenységét követően Dr. Csötörtök László volt hosszabb ideig az orvosi biológia oktatásának vezetője Lissák professzor irányítása alatt.

Dr. Csötörtök Lászlót az Erzsébet Tudományegyetem 1943-ban avatta doktorrá, aki ezt követően az Élettani Intézetben kezdte munkáját díjtalan gyakornokként, 1947-ben „díjas” demonstrátor, 1949-ben tanársegéd, majd 1951-ben lett egyetemi adjunktus. Ebben az időszakban az orvosi biológia oktatása a maihoz hasonlóan az első évben zajlott, az első félévben 3 óra előadás, 2 óra gyakorlat, míg a második félévben 2 óra előadás, 2 óra gyakorlat szerepelt az órarendben; az első szemeszter kollokviummal, a második pedig szigorlattal zárult.

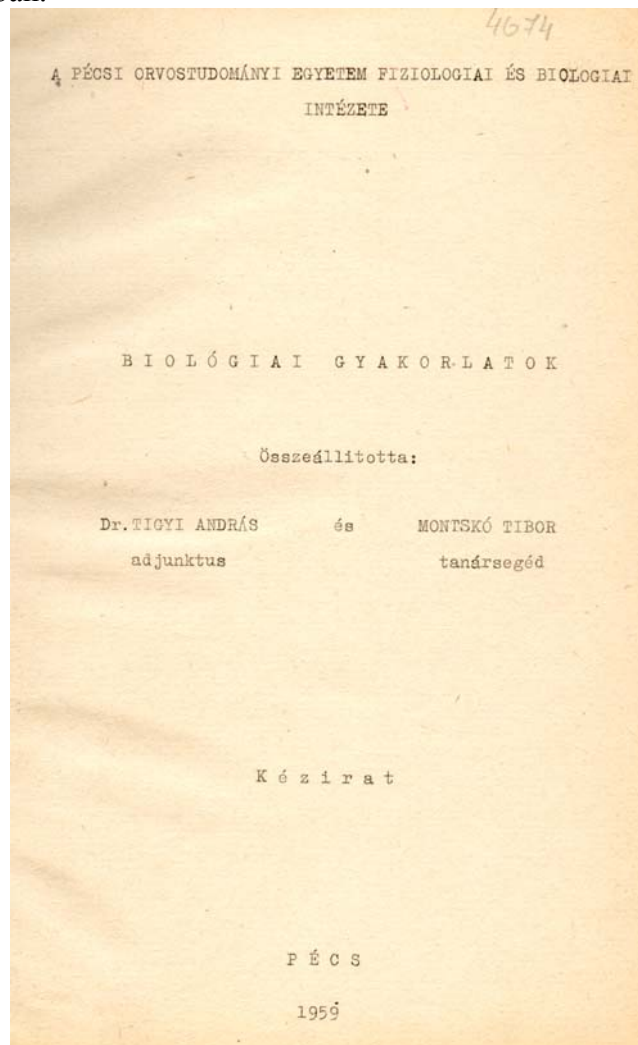
Ez az oktatási alapstruktúra 1948-tól kezdődően alakult ki, mely a magyar orvosképzés fejlesztésében nagy jelentőségű lépés volt. Az orvosi biológia oktatásának feladatait 1955. november 15-ig látta el Csötörtök doktor, akit ekkor kérésére a rektor felmentett egyetemi adjunktusi állásából, mert a Sátoraljaújhegyi Kórház laboratóriumvezető főorvosi állását nyerte el. Ebben az alaphelyzetben kapta meg Lissák professzortól Dr. Tigyi András az Élettani Intézet adjunktusa az orvosi biológia oktatásának feladatait, mely feladatnak vezetőként 1992-ig, tehát 37 évig, illetve ezt követően 2001-ben bekövetkezett haláláig áldozatos, példamutató megvalósítója volt.



1. ábra

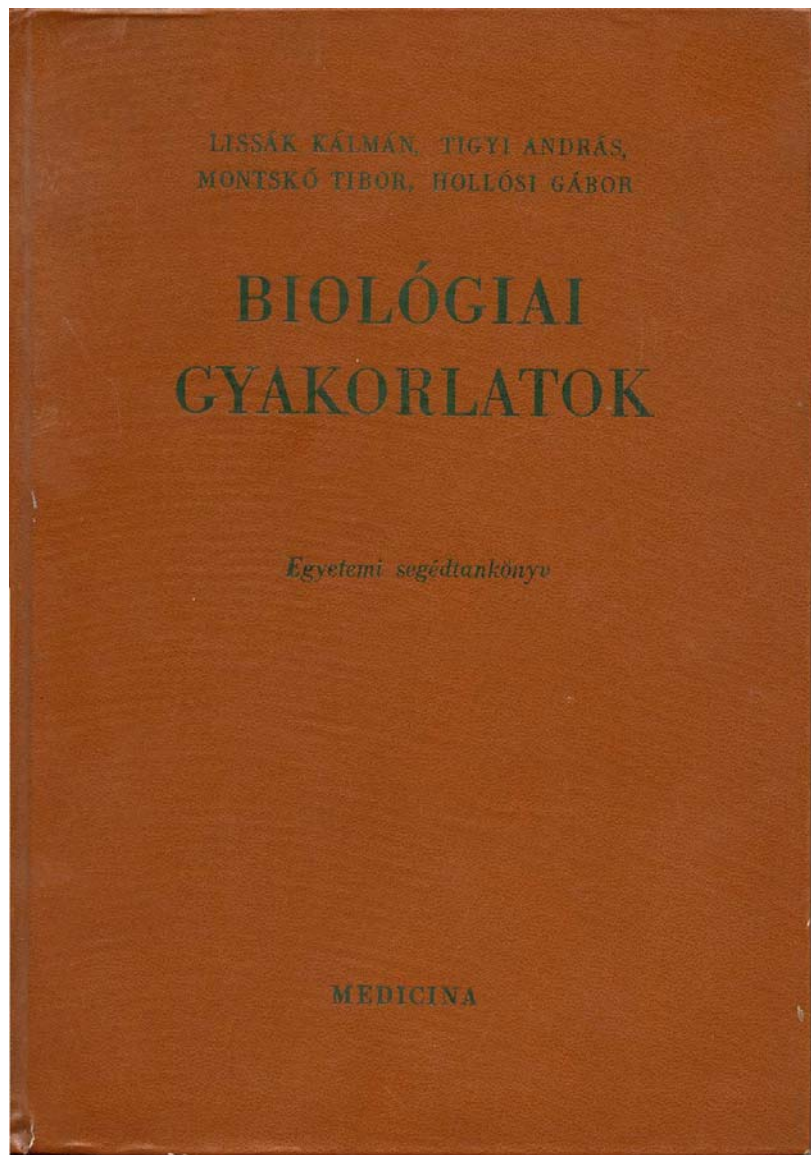
Tigyi András előtt 1955-ben sokrétű, igen komplex feladat állt. Az orvosképzéshez adaptált tananyag kialakulása a hazai Orvostudományi Egyetemek Biológiai Intézeteiben, illetve a biológiát oktató intézetekben, az útkeresés fázisában volt. Hivatalosan az általános biológia képezte az orvosi biológia tananyagát, mely a főbb életjelenségek ismertetésével, az élő rendszerekre vonatkozó általános törvényszerűségeket, a rendszerezési alapelveket, típusokat, filogenetikai alapokat foglalt össze (1. ábra). 1956-ban jelent meg a hivatalosnak tekintett Általános Biológia c. tankönyv, amelynek tematikáját a hazai Orvostudományi Egyetemek orvosi biológiát oktató intézetei, a biológiai tények interpretációs megfontolásai miatt csak igen korlátozottan tekintettek általános érvényűnek. Tigyi András 1958-ban, a Felsőoktatási Szemlében közölt cikkében erről így írt: „Az általános biológia jelenlegi tematikája több fejezetben elavult, túlzottan morfológiai beállítottságot képvisel, és így a modern, funkcionális szemléletet igénylő orvosképzés érdekeit nem szolgálja. Nincsen szoros kapcsolata a felsőbb évek tárgyaival, így az orvostanhallgatók későbbi tanulmányai során erre nagyon keveset építhetnek.” Ezzel egyidejűleg kialakulatlan volt a biológia gyakorlatok tematikája is. Mindezekből következett, hogy Tigyi Andrásnak ki kellett alakítania az orvosi biológia oktatási feladatainak, valamint az ezekhez elengedhetetlenül szükséges tudományos munka megindításának és folytatásának feltételeit biztosító munkatársi gárdából álló munkacsoportot. Így jött létre az ötvenes évek második felében, majd a hatvanas években az a mag, melynek tagjai az Élettani Intézet Biológiai munkacsoportját alkották, melyből a mai Orvosi Biológiai Intézet ténylegesen kinőtt. Az alakuló mag egyetemi státusokon lévő tagjai

mellett nem szabad megfeledkeznünk azokról a lelkes orvosokról, akik mint TDK-s hallgatók működtek közre a Tigyi András által vezetett munkacsoportban, az intézet oktatási és tudományos munkájában.



2. ábra

Az útkereső, oktatást fejlesztő tevékenység első eredményei közt volt az a gyakorlati oktatást segítő munka, mely 1959-ben jelent meg Biológiai gyakorlatok címmel (2. ábra). Ez a gyakorlati jegyzet képezte alapját a hatvanas években két kiadást megért gyakorlati tankönyvnek, mely jól dokumentálja azt, hogy az Intézet gyakorlati oktatását modernizáló törekvései országosan is elismerést nyertek, az Orvostudományi Egyetemeken kívül más, a biológiai diszciplínákat különböző szinten oktató felsőoktatási intézmények is alkalmazták a könyvet (3. ábra). Az Intézet az oktatás elméleti anyagát az 1960-ban megjelent jegyzetben adta a hallgatók kezébe, az intézeti jegyzet fejezetei közt már szerepelnek azok az ismeretek, melyek a molekuláris sejtbiológia és genetika alapját képezik, hiszen erre az időszakra esik a forradalmian új és alapvető molekuláris biológiai felfedezések egész sora (4. ábra). Érezhető ez az intézet tudományos irányvonalának kialakulásában is, a fiziológiai jellegű kutatási irányok mellett, a sejtbiológiai, molekuláris biológiai szint is jelen van a tudományos programban. Ezen irányzat kedvező fejlődési lehetőségét elősegítették a POTE nagyműszer beszerzési programjai is, ekkor kerültek az akkori központi épületben elhelyezésre a korabeli modern ultracentrifugák és az első NDK gyártmányú elektronmikroszkóp is, melyek a metodikai skálát igen jelentősen bővítették.

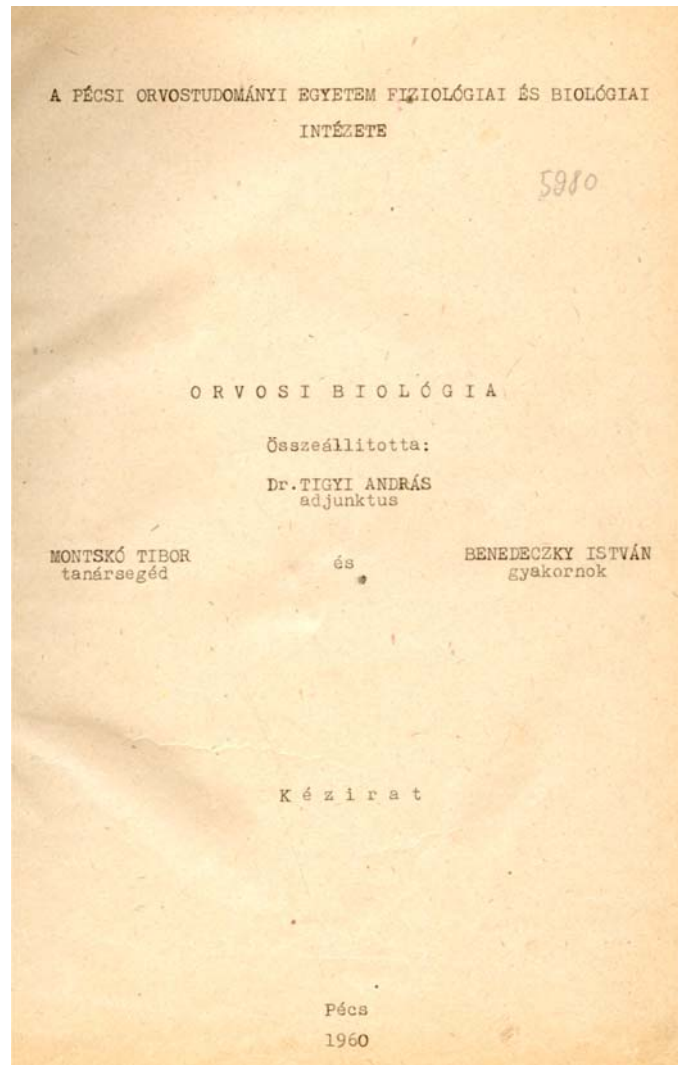


3. ábra

E periódusban, a hatvanas évek első felében fontos mozaikelemet jelentett az intézet életében, hogy Tigyi András egyetemi docensi kinevezést kapott 1961-ben, mely megerősítette abban Őt, hogy az általa vezetett intézet jó irányba halad, s ezzel együtt kellő támogatást kapott továbbá az intézeti létszám emeléséhez.

A hatvanas évtizedben az intézet mind oktató, mind tudományos munkájában megerősíti a molekuláris dimenziókban való gondolkodást és munkálkodást, mely egyben az orvosi-orvosbiológiai dimenziók megjelenését is jelentette az intézet szemléletében. Tigyi András vezetésével kiteljesedett a néhány évvel korábban elindult folyamat, melyben világossá vált, hogy a klasszikus általános biológiai tematika egyrészt korszertlen, másrészt szintetikus diszciplína lévén, a megértéséhez több biológiai rész tudomány ismerete feltétlenül szükséges. Az évről évre formálódó oktatási program kialakításában a fő szempont az volt, hogy az orvostanhallgatók természettudományos szemléletének, ismeretének megalapozásához a rohamosan fejlődő biológia olyan területei, eredményei kerüljenek oktatásra, amelyek a II., III. évfolyam diszciplínáihoz, s a klinikai ismeretekhez is kellő és felhasználható alapot, mintegy előképzettséget nyújtanak. Ezen törekvések jól követhetőek az intézet által készített

hallgatói jegyzetek tematikai változásaiban. A korábban relatíve nagy volument jelentő típusú, összehasonlító élettani és más fejezetek redukálódtak, majd az ezt követő időszakban a fő feladat az új eredmények szelektálása volt az orvosképzés igényeinek, képzési célkitűzéseinek megfelelően. E folyamatban jelentősen kibővültek a sejt és molekuláris biológiai fejezetek, az általános genetika molekuláris szintű értelmezést kap, s megjelent a humán genetika alapjait taglaló fejezet.



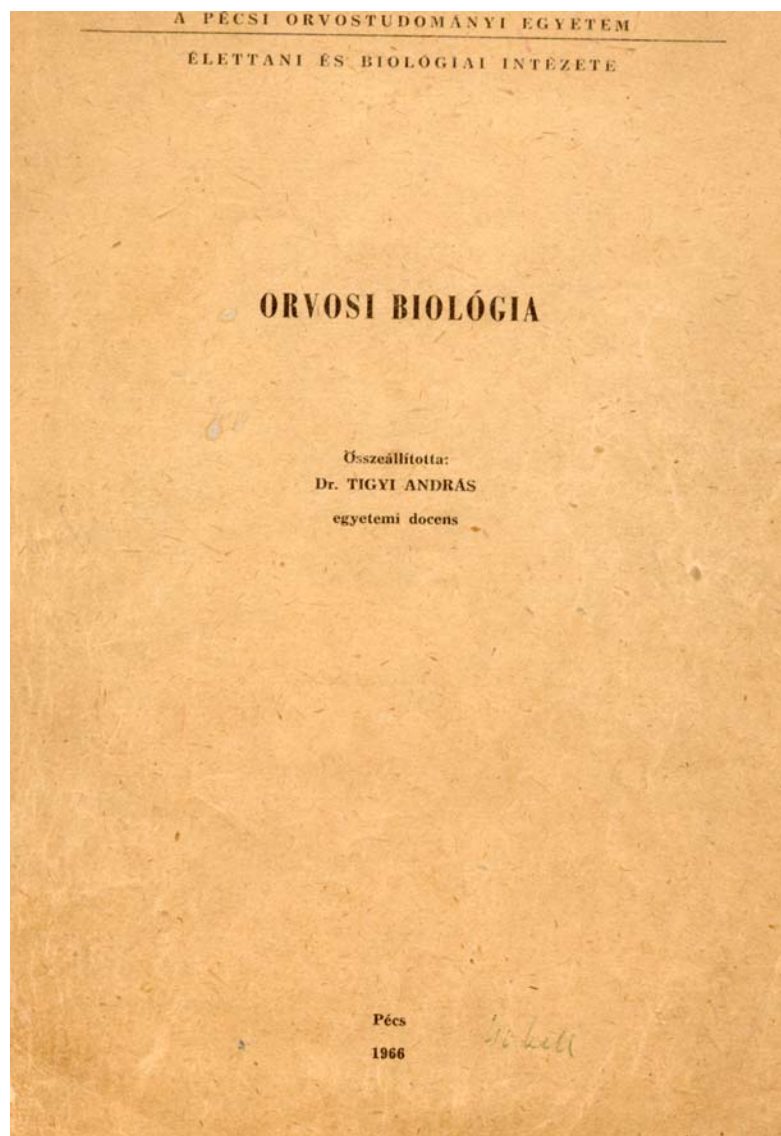
4. ábra

E periódusban, a hatvanas évek első felében fontos mozaikelemet jelentett az intézet életében, hogy Tigyi András egyetemi docensi kinevezést kapott 1961-ben, mely megerősítette abban Őt, hogy az általa vezetett intézet jó irányba halad, s ezzel együtt kellő támogatást kapott továbbá az intézeti létszám emeléséhez.

A hatvanas évtizedben az intézet mind oktató, mind tudományos munkájában megerősíti a molekuláris dimenziókban való gondolkodást és munkálkodást, mely egyben az orvosi-orvosbiológiai dimenziók megjelenését is jelentette az intézet szemléletében. Tigyi András vezetésével kiteljesedett a néhány évvel korábban elindult folyamat, melyben világossá vált, hogy a klasszikus általános biológiai tematika egyrésztől korszerűtlen, másrészt szintetikus diszciplína lévén, a megértéséhez több biológiai rész tudomány ismerete feltétlenül

szükséges. Az évről évre formálódó oktatási program kialakításában a fő szempont az volt, hogy az orvostanhallgatók természettudományos szemléletének, ismeretének megalapozásához a rohamosan fejlődő biológia olyan területei, eredményei kerüljenek oktatásra, amelyek a II., III. évfolyam diszciplináihoz, s a klinikai ismeretekhez is kellő és felhasználható alapot, mintegy előképzettséget nyújtanak. Ezen törekvések jól követhetőek az intézet által készített hallgatói jegyzetek tematikai változásaiban. A korábban relatíve nagy volument jelentő típustani, összehasonlító élettani és más fejezetek redukálódtak, majd az ezt követő időszakban a fő feladat az új eredmények szelektálása volt az orvosképzés igényeinek, képzési célkitűzéseinek megfelelően. E folyamatban jelentősen kibővültek a sejt és molekuláris biológiai fejezetek, az általános genetika molekuláris szintű értelmezést kap, s megjelent a humán genetika alapjait taglaló fejezet.

Mindezen törekvések helyességét igazolta az is, hogy a sejtbiológia egyre inkább teret hódított a társegyetemek orvosi biológiai oktatásában is, és az Egészségügyi Minisztérium által 1977-ben szervezett országos tematikai egyeztetést követően lényegében egységes tananyag szerint történik a tárgy oktatása mind a négy orvosegyetemen (5. ábra).



5. ábra

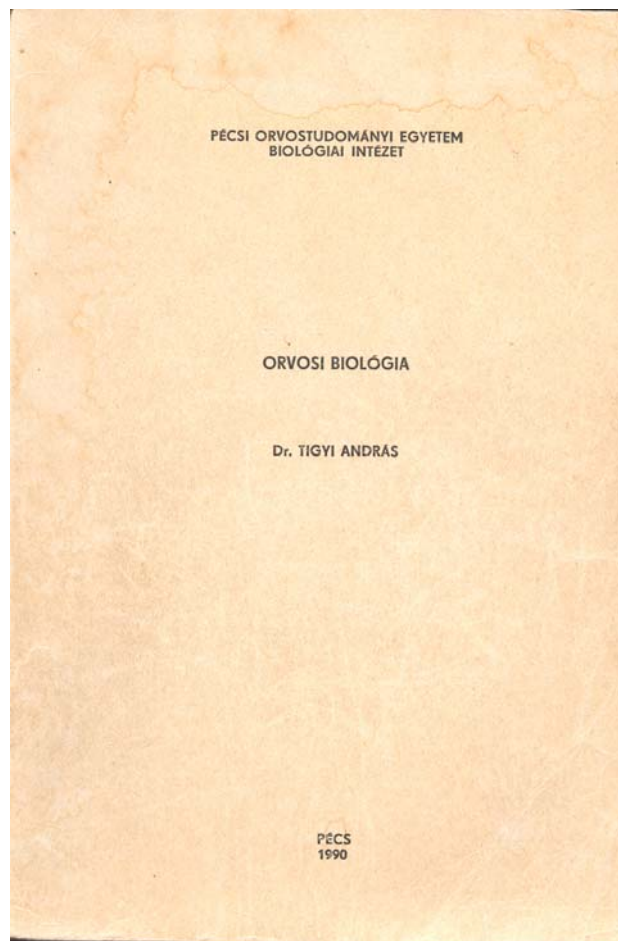
S most ismét egy olyan időpont kiemelése következik, amely az intézet fejlődésében korszakos jelentőségű volt: 1970-ben kapta meg Tigyi András az egyetemi tanári kinevezést, s ugyanebben az évben költözött át az intézet a Rákóczi út 80-ból a mai Általános Orvostudományi Kar központi épületébe, a Szigeti út 12-be. E két esemény egyben azt is jelentette, hogy különvált az Orvosi Biológiai Intézet az Élettani Intézettől. Ekkor hangzott el Lissák professzor úrtól az új intézet avatásán, az azóta intézeti körökben sokszor idézett mondat: „Tigyi professzor, kedves Bandi, most elvágjuk a köldökszínort.” (6., 7., 8. ábra) Ez természetesen csak képletes volt, hiszen Lissák professzor úr nagy érdeklődéssel figyelte az intézet életét továbbra is. A hetvenes-nyolcvanas években sem állt le oktatási tematikánk fejlődése, ezekben az években a program tumor-biológiai, sejtpatológiai vonatkozásokkal színesedett, mely lépéseinkre egyetemünk intézetei és klinikái, valamint a hallgatók is pozitívan reagáltak. Tigyi András professzor által írt hallgatói jegyzetek utolsó verziója már ezeket a fejezeteket is tartalmazta (9. ábra). A molekuláris sejtbiológia és humán genetika okta-



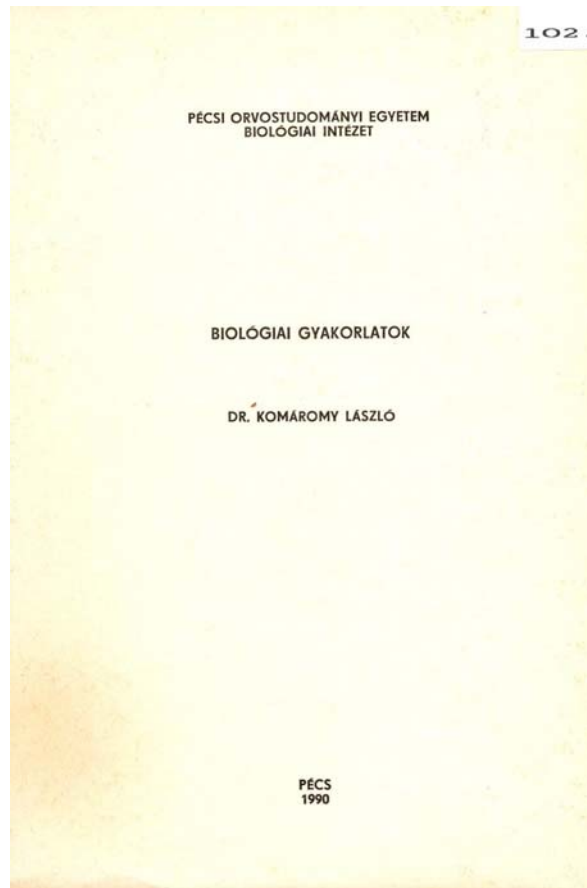


6., 7., 8. ábra

tási anyagunknak megfelelően modernizáltuk gyakorlati oktatási anyagunkat, ezt jegyzetek formájában a hallgatók rendelkezésére bocsátottuk. Programozott gyakorlati rendszerrel sikerült elérni, hogy a lehető legtöbb önálló tevékenységgel közeledjen a medikus az oktatott anyaghoz (10. ábra).



9. ábra



10. ábra

Mint utaltam rá a korábbiakban, az intézet tudományos munkája természetesen az első időszakban fiziológiai tematikájú volt. A neuro-humorális reguláció jelentette az induló területet. Tigyi professzor kandidátusi disszertációját e problémakörből védte meg, majd követték ezt további munkák e területen, ahogy ezeket a kiragadott publikációk felvillantásával megkísérlem felidézni (11. ábra). Az ötvenes évek végén azonban megindulnak a molekuláris sejtbiológiai területeken az első munkák, s az intézet tudományos érdeklődése folyamatosan sejtbiológiai irányba fordul, mely a hatvanas években ennek megfelelően kiszélesedett. A publikációkban a szeparációs technikák, az elektronmikroszkóp felhasználásával kapott eredmények is megjelennek, a sejtbiológiai irányokkal együtt a fiziológiai jellegű munkák is tovább élnek, az egyes problémák interdiszciplináris megközelítése igen hasznos volt. A főbb irányok így a szekréció mechanizmusának, a génexpresszió regulációjának, az RNS szintézis, RNS transzport és érés részfolyamatainak kérdései felé tolódtak. Elősegítette mindezt a hatvanas évek közepétől folyamatosan zajló hosszabb tanulmányutak sora is Glasgow, Moszkva, Hamburg, Houston, St. Louis, Boston, Los Angeles különböző intézeteiben.

A hetvenes-nyolcvanas években a fentiek mellett a molekuláris patológia irányába is nyitott az intézet különböző területeken.

1. Tigyi András: A vagus-afferenciós-trofikus hatásának jelentősége neurohumorális integrációban 1958. 99 p. (Kandidátusi disszertáció)
2. Pappi A., Tigyi A., Lissák K., Benedeczky I.: Az adrenalin és noradrenalin kémiai és biológiai meghatározásának módosítása Kísérlet. Orvostud. 1959. 11, 287-290.
3. Tigyi A., Montskó T., Lissák K., Major A.: Comparative data to the neurohumoral of calcium metabolism Acta Biol. Acad. Sci. Hung. 1959. 9, 355-362.

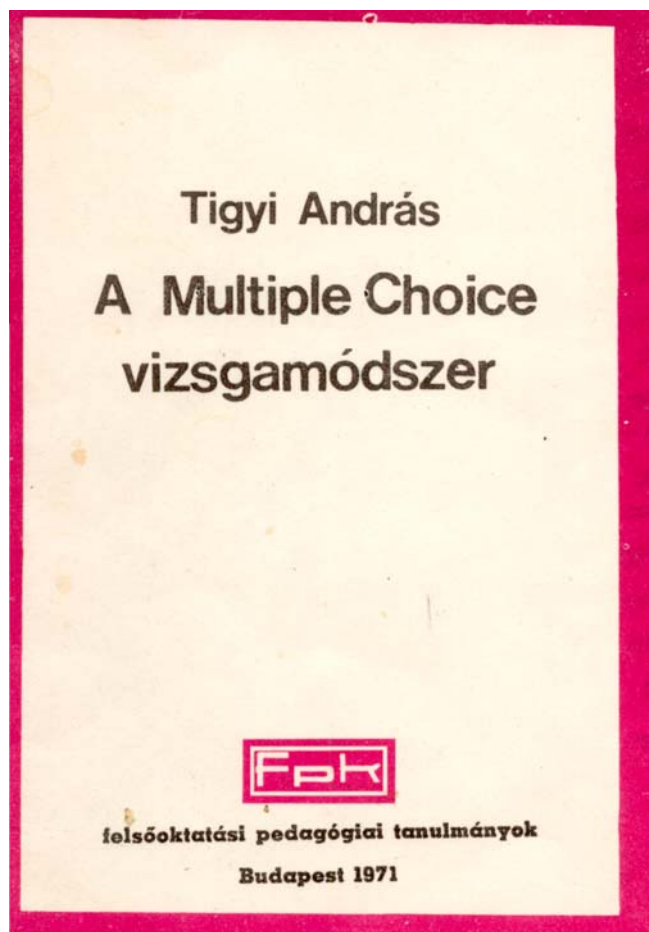
4. Tigyi A., Benedeczky I., Lissák K.: Studies on the modifying effect of isolated desoxyribonucleic acid in mammals. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.* 1959. 10, 197-205.
5. Hollósi G., Benedeczky I., Tigyi A., Lissák K.: The role of the nervous system in the maintenance of the ribonucleic acid and desoxyribonucleic acid content of striated muscle tissue. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.* 1960. 11, 145-153.
6. Molnár J., Tigyi A., Lissák K.: Connection between vagal afferentation and higher nervous activity. *Acta Montskó T., Tigyi A., Benedeczky I., Lissák K.: Electron microscopy of parathyroid secretion in *Ran esculenta*. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.* 1963. 14, 81-94.*
8. Benedeczky I., Puppi A., Tigyi A., Lissák K.: Various cell types of the adrenal medulla. *Nature (Lond.)* 1964. 204, 591-592.
9. Juhász P., Tigyi A., Lissák K.: Effect of indirect stimulation on the nucleic acid content of the rat muscle. *Acta physiol Acad. Sci. Hung.* 1964. 25, 5-10.
10. Molnár J., Tigyi A., Lissák K.: Changes of the nucleic acid content in the denervated submaxillary gland of the dog. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* 1964. 24, 279-286.
11. Puppi A., Benedeczky I., Tigyi A., Lissák K.: Serotonin-carrying granules in the mitochondria of the frog pancreas. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* 1966. 29, 47-52.
12. Komáromy L., Montskó T., Tigyi A., Lissák K.: Light and electron microscopic studies of the acinar cells of the pancreas after fasting and feeding. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* 1967. 31, 209-215.
13. Samarina O.P., Molnár J., Lukanidin E.M., Bruskow V.J., Krichevskaya A.A., Georgiev G.P.: Reversible dissociation of nuclear Ribonucleoprotein particles containing mRNA into RNA and protein. *J. Molec. Biol.* 1967. 27, 187-191.
14. Juhász P., Benecke B.J., Seifart K.H.: Inhibition of RNA polymerases from rat liver by the semi-synthetic rifampicin derivatives. *FEBS Letters* 1972. 27, 30-34.
15. Lukanidin E.M., Zalmanzon E.S., Komáromy L., Samarina O.P., Georgiev G.P.: Structure and
16. Tomcsányi Tihamér-Tigyi András: Informofer-like protein in poliribosomes. Preliminary communication. *Acta Biochem. et biophys. Acad. Sci. Hung.* 1971. 6, 149-151.
17. Molnár J., Komáromy L., Tigyi A.: The heterogeneity of informofer. 2. Differential effects of actinomycin-D on nuclear particles containing different types of dRNA. *Acta biochem. et biophys. Acad. Sci. Hung.* 1972. 7, 299-305.
18. Juhász P., Molnár J.: The heterogeneity of informofer. 4. Informofer complexes containing DNA. *Acta biochem. et biophys. Acad. Sci. Hung.* 1973. 8, 231-236.
19. Molnár J., Samarina O.P.: Purification of nuclear ribonucleoprotein complexes containing poly-(Adenylic Acid), *Acta biochem. et biophys. Acad. Sci. Hung.* 1975. 10, 263-266.
20. Tomcsányi T., Molnár J., Tigyi A.: Nuclear and polyribosomal ribonucleoprotein particles containing poly(A) in rat liver cells *Mol.*
21. Daskal Y., Komáromy L., Busch H.: Isolation and partial characterization of perichromatin granules. A unique class of nuclear RNP particles. *Exp. Cell Res.* 1980. 126, 39-46.
22. Tigyi A., Szeberényi J., Komáromy L., Kleeberg U., Gaál J.: Effect of 3-methylcholanthrene on RNA polymerase and protein kinase activities and on the nuclear ultrastructure of rat liver. *Acta. Biol. Acad. Sci. Hung.* 1980. 31, 329-339.
23. Szeberényi J., Apirion D.: Initiation, processing and termination of ribosomal RNA from a hybrid 5S ribosomal RNA gene in a plasmid. *J. Mol. Biol.* 1983. 168, 525-557.
24. Zsoldos T., Tigyi A., Montskó T., Puppi A.: Lipid peroxidation in the membrane damaging effect of silica-containing dust on rat lungs. *Exp. Pathol.* 1983. 23, 73-77.
25. Szeberényi J., Tomcsányi T., Apirion D.: Maturation of the 3' end of 5S ribosomal RNA from *Escherichia coli*. *Eur. J. Biochem.* 1985. 149, 113-118,
25. Zsoldos T., Czeglédi B., Tigyi A., Jávör T., Mózsik Gy.: Interrelationships between the development of the gastric cytoprotective effects of prostacyclin, atropine, cimetidine and the gastric mucosal superoxide dismutase activity in rats. *Acta Physiol. Hung.* 1984. 64, 325-330.
26. Tomcsányi T., Apirion D.: The processing enzyme ribonuclease E specifically cleaves RNA I: an inhibitor of primer formation in plasmid DNA synthesis. *J. Mol. Biol.* 1985. 185, 713-720.
27. Reisz S., Tigyi A., Mátyás Gy.: The bronchoalveolar lavage in experimental carcinogenesis. *Exp. Med. Sci.* 1988. 40, 359.
28. Dely M., Zsoldos T., Puppi A., Tigyi A.: Correlations between lipid peroxidation, nutritional state and redox state in different muscles of the frog. *Radiacis, ions and tissue damage*, 1990. 61-66.
29. Szeberényi J., Erhardt P., Cai H., Cooper G.M.: Role of Ras in signal transduction from the NGF receptor: Relationship to protein kinase C, calcium, and cyclic AMP. *Oncogene*, 1992. 7: 2105-2113.

Az intézet tudományos munkájával kapcsolatos rövid áttekintést az 1992-ig elkészült kandidátusi és doktori disszertációk felidézésével legyen szabad zárnom (12. ábra).

1. Puppi András: A tónusgátlás mechanizmusának elektrofiziológiai és farmakológiai analízise. Pécs, 1962. (Kandidátusi értekezés)
2. Molnár János: A sejtmag mRNS-t tartalmazó ribonukleoproteid komponensének szerkezeti elemzése. Pécs, 1968. (Kandidátusi értekezés)
3. Juhász Péter: Az emlős kódátírás sajátosságainak vizsgálata sejtmentes rendszerekben Pécs, 1973. (Kandidátusi értekezés)
4. Komáromy László: A sejtmag pre-mRNP partikulumainak funkcionális morfológiai vizsgálata. Pécs, 1975. (Kandidátusi értekezés)
5. Molnár János: A sejtmag pre-mRNP komplexei és szerepük a mRNS nukleo-citoplazmatikus transzportjában. Pécs, 1977. (Doktori értekezés)
6. Montskó Tibor: A kecskebéka (*Rana esculenta*) Ca^{++} forgalmának szabályozó mechanizmusai. Pécs 1979. (Kandidátusi értekezés)
7. Tomcsányi Tihanér: A fehérjekomponensek szerepe a messenger ribonukleoproteidek szerkezetének kialakításában. Pécs, 1981. (Kandidátusi értekezés)
8. Szeberényi József: Rekombináns plazmidok álttal kódolt 5S riboszomális-RNS érése *Escherichia coliban* Pécs, 1985. (Kandidátusi értekezés)

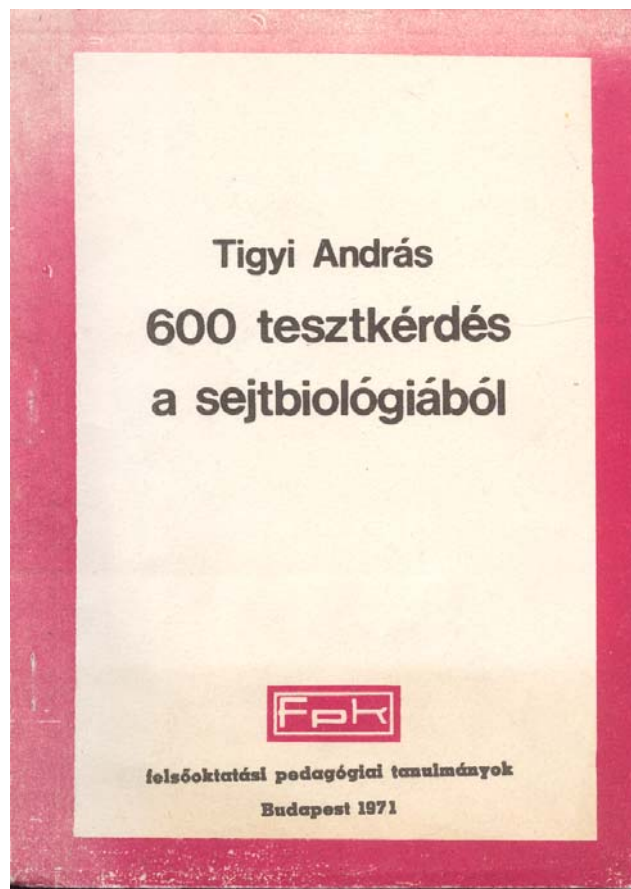
12. ábra

Azt hiszem, hogy az intézet mozaikokból 1992-ig kirajzolódó képéből nem hiányozhatnak az orvosképzés oktatásmódszertani vonatkozásaival kapcsolatos legfontosabb momentumok. Az oktatási anyag tematikai fejlesztésével párhuzamosan Tigyi András professzor



13. ábra

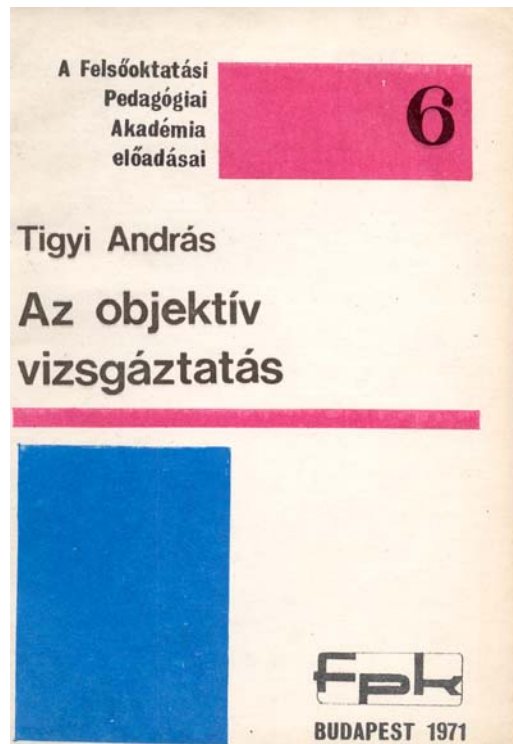
felsőoktatás pedagógiai érdeklődésének megfelelően az intézet e kérdések felé is jelentős lépéseket tett. A minél objektívebb vizsgáztatásra való törekvés során elsőként a komplex, esszé kérdések és szóbeli vizsgával kombinált vizsgáztatás indult el a hatvanas évek elején, mely a hagyományos szóbeli szigorlatnál részletesebb, alaposabb információt adott a vizsgázókról. Hamarosan követte ezt azonban a multiple-choice teszt vizsgatechnika alkalmazása, melyről szerénytelenség nélkül megállapítható, hogy a hazai orvosképzésben országosam elsőként lépett az intézet erre az útra (13. ábra). Az intézet tagjai nagy aktivitással fordultak a most már sejtbiológiai és genetikai tananyag tesztkérdésekben történő feldolgozásához, mely kérdésekkel a hallgatóság évközi ellenőrzéseken, vagy a szigorlatokon találkozott (14. ábra). A módszer országos érdeklődést váltott ki, s fokozatosan terjedt a hazai orvosegyetemeken, illetve más oktatási-felsőoktatási intézményekben.



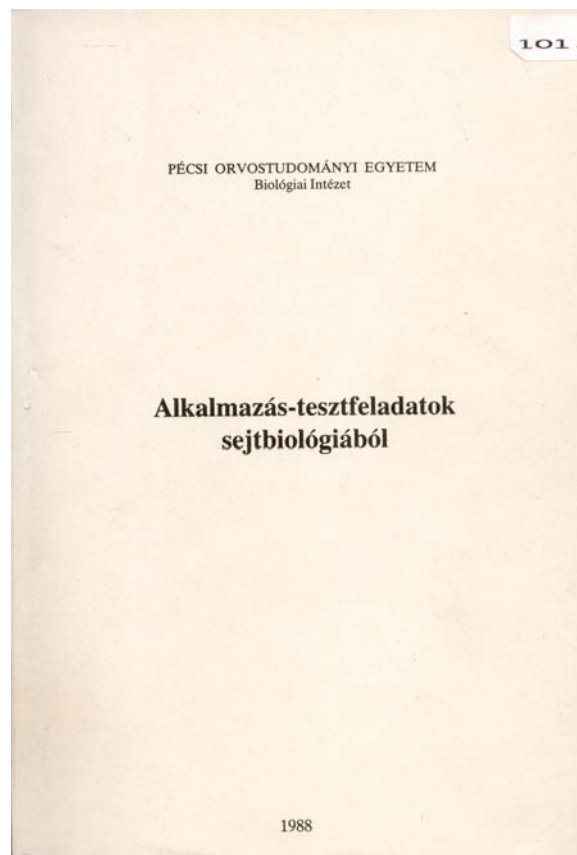
14. ábra

A kiszélesedő érdeklődést mutatja, hogy az ebben az időszakban megalakult Felsőoktatási Pedagógiai Központ – melynek igen aktív külső munkatársa volt Tigyi professzor – közleményeiben, kiadványaiban, országos konferenciáin a vizsgáztatás ezen újabb lehetőségeivel igen intenzíven foglalkozott (15. ábra). Mindezek elősegítették és eredményezték azt, hogy egyetemünkön Tigyi professzor kezdeményezésére 1974-ben megalakult az Oktatástechnikai Csoport, melynek vezetője is lett. Az orvosképzés pedagógiai, audio-vizuális oktatási, kurrikulum fejlesztési, programozott oktatási jellegű feladatait végző csoport működését rövidesen egyetem szerte, mind az intézetekben, mind a klinikákon nagy érdeklődés kísérte, mely az oktatásban is éreztette hatását. A Csoport munkájában az intézet munkatársai az új iránti érdeklődés lendületével vettek részt. Bekapcsolódott ebbe a folyamatba a hallgatóság is oly módon, hogy az Oktatástechnikai Csoportban kidolgozott és

folyamatosan fejlesztett feed-back technikával fontos információkhoz jutottak az intézetek, klinikák oktatói.



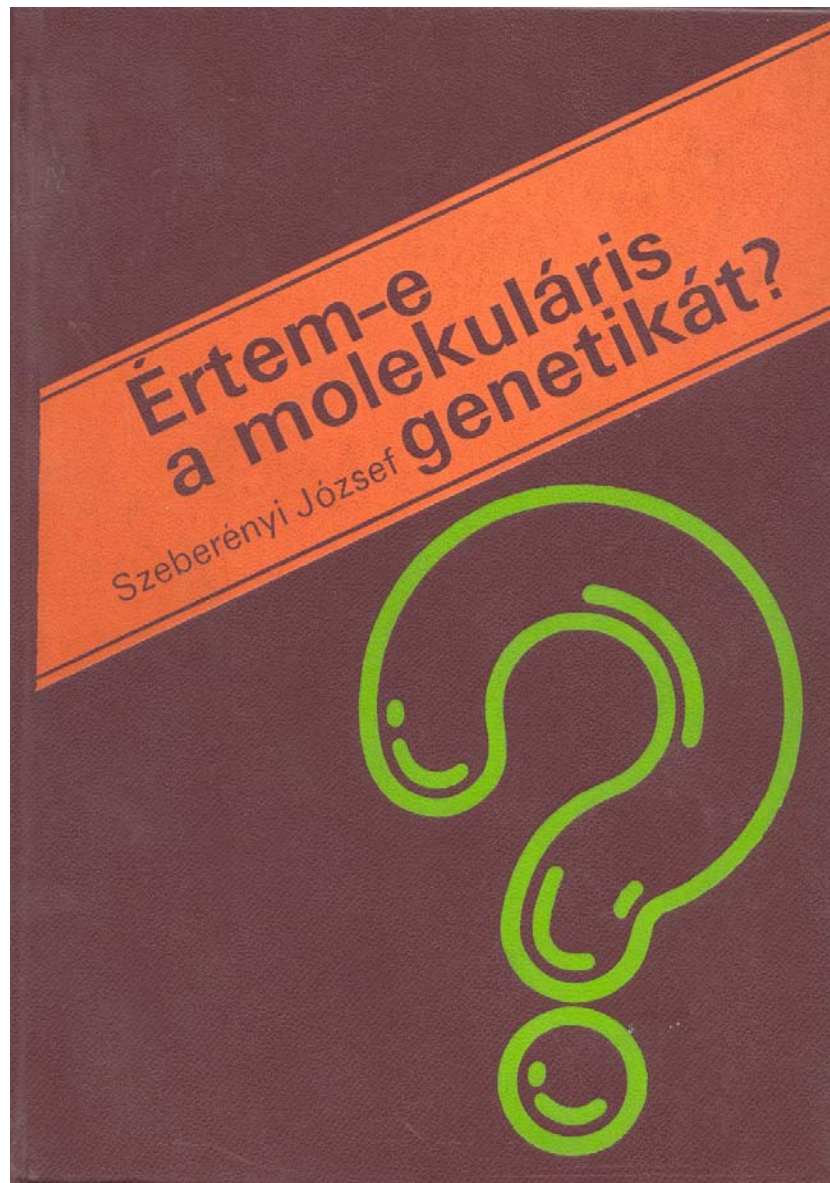
15. ábra



16. ábra

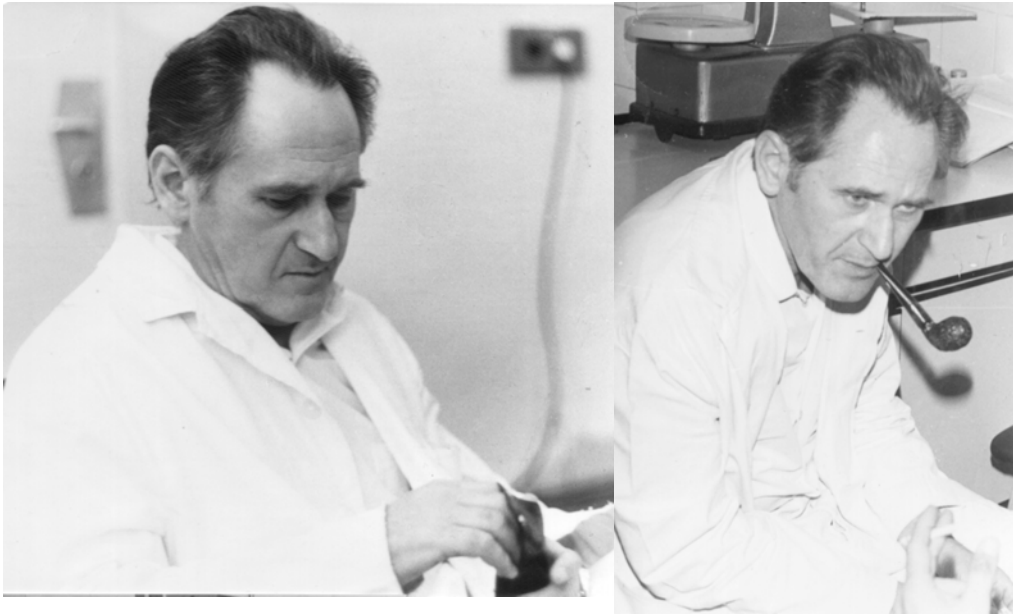
Intézetünk úttörő volt a ma már hagyományosnak tekinthető felelet-válogatós teszt tudásellenőrző módszer továbbfejlesztésében (16. ábra). A ma már alkalmazástezstnek nevezett módszer a hallgatók kreatív gondolkodásának, problémamegoldó készségének értékelésére, mérésére alkalmas. Ennek jelentőségét a molekuláris sejtbiológia orvosképzéshez adaptált oktatása során alig lehet túlhangsúlyozni.

Az alkalmazástezst meghonosodását különböző intézeti kiadványok, jegyzetek, könyvek törekedtek elősegíteni. A módszert azóta is, folyamatosan alkalmazza az intézet (17. ábra).



17. ábra

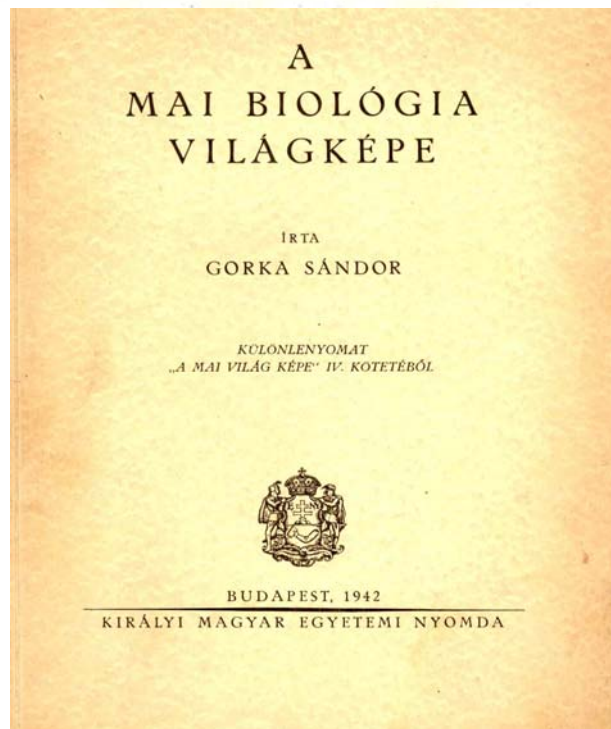
Az intézeti múlthoz ugyan közvetve tartozik, de hiba lenne a részemről, ha nem említenénk meg, hogy Tigyi András professzor 1984-ben rektori megbízás alapján kapta azt a feladatot, hogy szervezze meg és vezesse a POTE angol nyelvű oktatását, mely programnak 1990-ig vezetője volt. A mellékelt fényképek ebből az időszakból származnak (18. ábra).



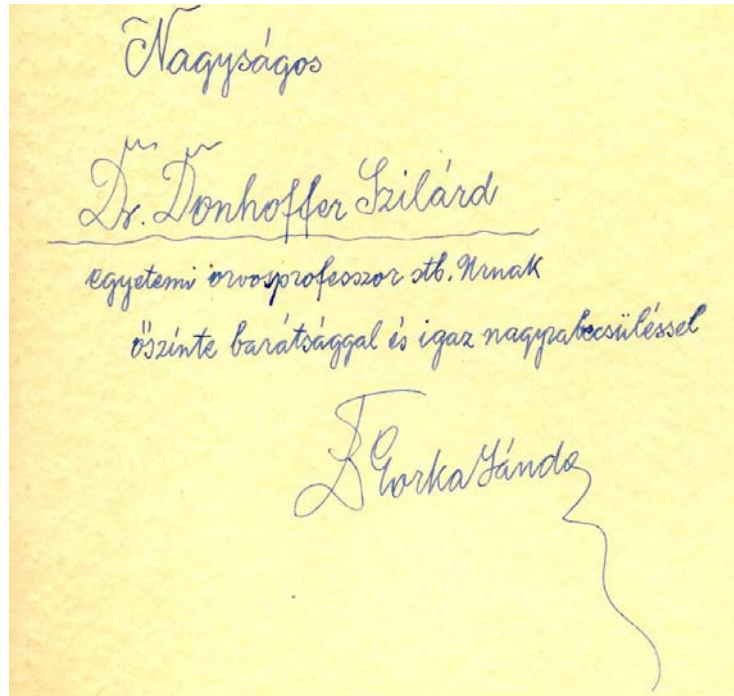
18. ábra

Intézetünk 1923-tól 1992-ig eltelt, nehézségeket és eredményeket váltakozva magában foglaló időszakban befutott fejlődését és sorsának alakulását legyen szabad Gorka professor egyik munkájából (19. ábra) kiemelt mondattal jellemezni. A munkát Donhoffer professor örököseitől kaptam ajándékba (20. ábra), melyben Gorka professor ajánló sorai és aláírása is megtalálható volt. A kiemelt mondat, mely azt hiszem általános érvényű így szól:

Minden nő és apad, megszűnik vagy más formákat ölt;
mindenből lehet minden, életből halál, a halálból élet; örökké és mindenütt
csak a változásnak szakadatlan folyamata az állandó.



19. ábra



20. ábra

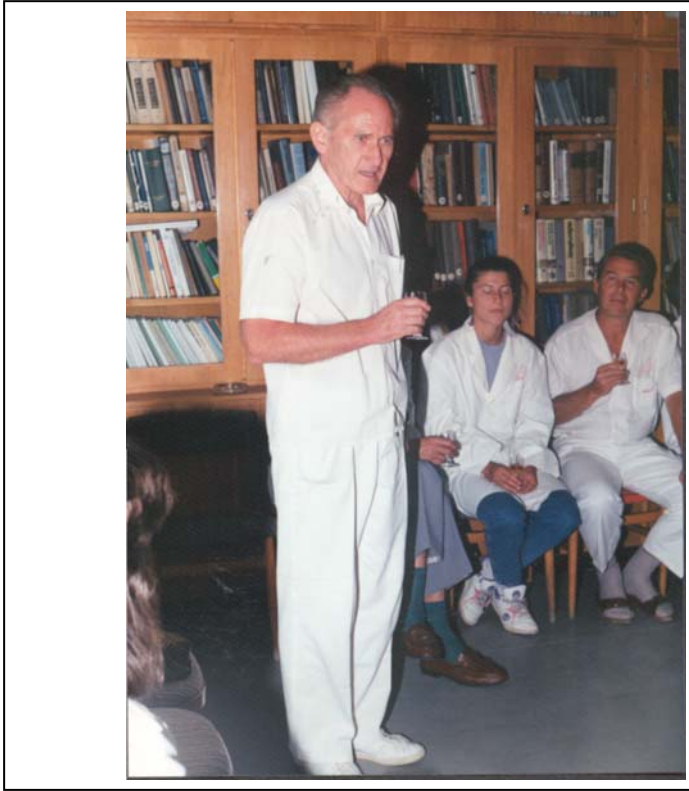
Befejezésül az utolsó mozaikelemeket is szeretném elhelyezni mozaikunkon az intézet oktatóinak, és oktatást, kutatást segítőinek felsorolásával. S itt már 1992-ben vagyunk, Tigyi András professzor átadja az intézetet Szeberényi professzornak 21., 22., 23. ábra).

Az Orvosi Biológiai Intézet oktatói 1992-ig

† Tigyi András	Puppi András
Benedeczky István	Reisz Zsuzsa
Dely Mátyás (vendégoktató)	Sáfrány Géza
Erhardt Péter	Sebők Ágnes
Gaál Judit	Somogyi Csilla
Hollósi Gábor	Szeberényi József
† Juhász Péter	Tamási Péter
Kiss Kornélia	Tomcsányi Tihamér
Komáromy László	Vitális Beáta
Molnár János	Zsoldos Tibor
Montskó Tibor	

Az Orvosi Biológiai Intézet oktatás-kutatás segítői

Báldy Tiborné	Miskolczi Valéria
Bátori Jenőné	Molitor László
Berta Gáborné	Molnár Gáborné
† Berta Károlyné	Moyzes Lajosné
Huba Lászlóné	Pákolitz Istvánné
Deák Árpádné	Schaffer Rudolfné
Herner Ferencné	Studinger Ferencné
Kieferné R.N. Eszter	Rákóczi Kornélia
Kiss Györgyné	Vecsernyés Mónika



21. ábra



22. ábra



23. ábra

Egy senior visszaemlékezései

Puppi András

**Pécsi Orvostudományi Egyetem, Biológiai Intézet
és Központi Állatkísérleti Laboratórium**

Azt a megtisztelő, de ugyanakkor szomorú megbízatást kaptam, hogy a Biológiai Intézet egykori, még élő, illetve még tűrhető egészségi állapotban lévő dolgozóinak legöregebbjeként mondjak pár mondatot múltunkról.

1956 februárjában kaptam meg a minisztérium levelét, melyben közölték, hogy munkahelyem a POTE Élettani Intézetének Biológiai munkacsoportja lesz. Déli órákban érkeztem meg az intézetbe, aholis a mundenható Miska bácsi fogadott, gondosan tanulmányozta a papírt, majd közölte, hogy Lissák professzor ilyenkor nem zavarható, mert alszik. Felkísért a Biológiai részlegbe, mely akkor mindössze két helyiségből állt. Itt meleg szeretettel fogadott Montskó Tibor, akivel még az egyetemről ismertük egymást. Ő közölte, hogy itt Tigyi András a főnök, de ő most katona. Elmesélte azt is, hogy a főnökváltás nem régen történt. Korábban Csötörtök László vezetett, akit ő jóindulatú emberként mutatott be, és aki sokat adott az oktatásra, de keveset a kutatásra. Oktatási anyagként cytológiát, filogenezist, és genetikát adott le. A múzeumban láttam egy olyan levelet is, melyben Csötörtök László szegénysorsú, de jó tanuló medikusnak 400 pengőt utalt ki a Horthy Miklós Ösztöndíjalap.

Beszélgetésünk után fogadott Lissák professzor, örült hogy intézete egy újabb kutatószakon végzett biológussal bővült.

Tigyi András, megérkezve, megbeszélte velem kutatási témámat, mely csatlakozva Sellye János akkor divatos stressz problematikájához, azt a feladatot tűzte ki, hogyan változik a mellékvesevelő adrenalin/noradrenalin szintje, és a szekréción arányok különböző stresszállapotokban. A témából megjelent publikációk mind a kért különlenyomatszámokban, mind pedig idézettségi vonatkozásban eredményesek voltak.

Hamarosan újra bővült a munkatársak létszáma, Benedeczky Pista kollégánkkal, akivel közösen folytattuk a témát, kiegészítve már az új elektronmikroszkóp segítségével ultrastruktúra vizsgálatokkal is. A munka keretében sikerült morfológiailag is azonosítani a velőállomány adrenalin és noradrenalin tartalmú granuláit. Ebben a vonatkozásban sikeres cikkvitát folytattunk a Nature hasábjain. Benedeczky Pista egyik kongresszusi előadása után nagy kacajt váltott ki az elnök megjegyzése, mondván – az előadó úr oly sokszor és olyan gusztusosan hangsúlyozta a mellékvesevelő szót, hogy elhatároztam, ebédszünetben vesevelőt fogok ebédelni.

Komolyabbra fordítva a szót, a biológia tárgy oktatási témája akkor az összehasonlító állatszervezetten, és élettan volt. Minthogy 1958-ban ismét lehetőség lett külföldi aspirantúrára, arra gondoltam, hogy a munkacsoport komparatív fiziológia tematikájának további műveléséhez talán azzal is hozzájárulhatok, hogy jelentkezem e tárgykörben aspirantúrára. Sikeres felvételi vizsgát követően valóban elutaztam 3 évre a leningrádi

egyetemre, ahol a tónusgátlás mechanizmusa tárgykörben dolgozva 3 év múlva, már mint kandidátus tértem vissza.

Hogy jó volt az ötlet, bizonyítva láttam abban is, hogy a munkacsoport minden tagja, tematikájának megfelelően a békapankréasz exokrin szekréciójával foglalkozott már. Nekem a neurohumorális szabályozás témaköre jutott. Ebben a tárgykörben dolgozva, egy nagyon érdekes összefüggésre jöttem rá, nevezetesen, hogy a szöveti redox állapot potenciáljának milyen jelentős szerepe van az ingerületi folyamatokban, úgyhogy ebben az irányban haladtam tovább. A biológiai munkacsoport ugyanakkor felfigyelt a tudomány egy igen érdekes, perspektivikus ágára, a molekuláris biológiára.

Mínthogy közben kinevezést kaptam a Központi Állatkísérleti Laboratórium igazgatói tisztségére, ebbe az irányba már nem kapcsolódtam be. A Biológiai Intézettől természetesen nem szakadtam el továbbra sem, főleg lelkiileg, de gyakorlatilag sem, mert új munkahelyemen önálló oktatói terület nem lévén, oktatómunkámat továbbra is itt végeztem.

Munkáséveimben produkált 111 publikációm 1971 előtti eredményeiről vázlatosan már beszámoltam, most csak az ezutáni eredményeket vázolnám dióhéjban.

Már a pankréasz exokrin szekréciójának tanulmányozásakor felfigyeltem arra, hogy a biofizis redox állapot potenciáljának lényeges szerepe lehet fiziológiai folyamatokban. Ingerületfiziológusként klasszikus objektumokon végeztem kísérleteket, és már az első, tájékozódó jellegű kísérletek is sokkoló hatásokat mutattak. Izolált békaszíven az acetilkolin jellegzetes negatív ino- és kronotróp hatása pozitívbe megy át egy oxidáns (metilénkék) jelenlétében, míg egy reduktáns (aszkorbát) fokozza a negatív effektust. Adrenalin esetében fordított az összefüggés: oxidáns csökkenti, míg reduktáns fokozza a pozitív adrenalin hatást. Béka íleumon oxidáns fokozta, míg reduktáns csökkentette a kontrakciós amplitúdókat. Oxidáns csökkentette, míg reduktáns eliminálta az adrenalin acetilkolint antagonizáló hatását. Esetleges specifikus hatás kiküszöbölése érdekében a kísérleteket megismételtük különböző kémiai szerkezetű oxidáns és reduktáns alkalmazásával is. A hatások minőségileg azonosak voltak. Ezen összefüggéseknek persze csak akkor tulajdoníthatunk élettani jelentőséget, ha igazolható volt, hogy a szív és az íleum napi redox állapot információs tartalma között különbség mutatható ki. Igazoltuk, hogy a szív redox állapotpotenciálja 60 mV-tal alacsonyabb, mint az íleumé. Ennek alapján kimondható volt, hogy az acetilkolin azért gátló hatású a szíven (adrenalin vice versa), és azért serkentő az íleumon, mert a szív redox állapot potenciálja szignifikánsan alacsonyabb az íleuménál.

Vizsgáltuk a redox hatást az autoritmikus aktivitás vonatkozásában is. Igazolódott, hogy az oxidáns csökkenti, míg reduktáns növeli az aktivitás amplitúdóját és frekvenciáját, és ez ismét rámutat a szív alacsony redox állapotpotenciáljának jelentőségére ezen fiziológiai folyamatban.

A legklasszikusabb ingerületi objektumon, idegsejtekben is igazolódtak az említett összefüggések. Voltage Clamp technikával dolgozva kiderült, hogy a V-Ampere karakterisztikák tanúsága szerint reduktáns csökkenti, míg oxidáns növeli a colinerg csatornák konduktanciáját.

Igazolni kellett, hogy az említett törvényszerűségek nemcsak izolált szerveken, vagy sejteken mutathatók ki, de élő szervezeteken belül is manifesztálódnak: altatott patkányokon is realizálódtak mindazok az összefüggések, melyeket leírtunk. Kimutattuk azt is, hogy a

légköri ionizáció unipolaritási hányadosának változásai hatására bekövetkező szív működési módosulások, és a biofázis redox állapota közötti összefüggések szoros korrelációt mutatnak, mivel ezek mind a redox állapot, mind a szív működés voantkozásában exogén redox ágensekkel jól befolyásolhatók voltak.

A redox hatások mechanizmusainak és támadáspontjainak vizsgálata során megállapítottuk: oxidációs eltolódás illetve natívan magas redox állapot hatására nő az acetilkolin receptor aktivitása, a K^+ efflux, a $Na^+ + Ca^{2+}$ ion influx, és az excitációs–kontrakciós kuplung aktivitása, míg csökken a $(Na^+ + K^+)$ aktiválható transzport ATPáz működése. Viszont redukciós shift, illetve natívan alacsony redox állapot esetén az említett folyamatok vice versa.

Szoros összefüggéseket állapítottunk meg még az aktuális redox állapot potenciál és az alkoholhatás, a dohányzás, a szilikózis, és a széntetraklorid mérgezés hatásai között is.

Találkozások a modern biológiával

Molnár János

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Élettani Intézet

Előadásomat az **oktatással** kezdem, ugyanis eddigi, nem rövid pályafutásom során különféle hangsúllyal, néha éllel jegyezték meg illetékesek és illetéktelenek, hogy hiszen bennünket itt az egyetemen éppen az oktatás okán tartanak. A másik szempont kézenfekvőbb: Az oktatási rend, tematika, melyet távozásom után új munkahelyemen kiépítettem, a POTE Biológiai Intézet oktatói közössége által létrehozott tananyagra épült. Ezt fejlesztettem tovább, a tudományág fejlődése szerinti újabb fejezetekkel kiegészítve. A hangsúlyt fokozottan a kémiai, molekuláris biológiai alapok elmélyítésére, szélesítésére helyeztem. Amennyiben egy oktatási tematika kimunkálása és fenntartása érdem, akkor ez egy közös érdem, ezért helye van bemutatásának, értékelésének ezen a fórumon.

1977-ben pályázat útján nyertem el a Szegedi Orvostudományi Egyetem Orvosi Biológiai Intézetének tanszékvezető egyetemi tanári állását. Az ÁOK akkor az intézet oktatási programját a molekuláris biológia irányába kívánta terelni, s ez a szempont alapvetően befolyásolta döntésüket a három pályázó ügyében.

1992-ig oktattam biológiát. A hallgatók az 5-évente átírt, felfrissített jegyzetekből és az előadások anyagából készülhettek fel a szigorlatra. Az *1. ábrán* az utolsó két egyetemi jegyzetem tematikáját mutatom be. Az I. kötet a tananyag 3/5 részét, a humán genetika pedig további 1/5 részét reprezentálja. A további tananyagot (fénymikroszkópos és szubmikroszkópos citológia, sejtszétválások, a molekuláris biológia szeparációs módszerei, kísérletek nukleinsavakkal, a génebesztet alapjai, humán citogenetika, néhány látványosabb példa a *Drosophila* genetikából, stb.) gyakorlatok keretében oktattuk.

SZENT-GYÖRGYI ALBERT ORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
ORVOSI BIOLÓGIAI INTÉZET

Orvosi Biológia I. Genom, gének, sejtfunkciók

Dr. Molnár János

Szeged
1991

LEKTORÁLTA:

Dr. Nagy Zsolt
egyetemi tanár

330 oldal, fontosabb fejezetek: oldal

1. A GENOM SZERVEZŐDÉSE.....	1
2. REPLIKÁCIÓ ÉS REPAIR	44
3. TRANZKRIPCIÓ, AZ RNS BIOSZINTÉZISE	79
4. RNS PROCESSING	157
5. SEJTMAGI RIBONUKLEOPROTEINEK	216
6. TRANZLÁCIÓ, A FEHÉRÉK BIOSZINTÉZISE	227
7. A GÉN, VAGY GÉNÁLLOMÁNY MEGVÁLTOZÁSÁVAL JÁRÓ ÉS A GÉNKIFEJEZŐDÉST BEFOLYÁSOLÓ GENETIKAI MECHANIZ- MUSOK	278
8. DNS-DIAGNOSZTIKA	303
FONTOSABB FORRÁSMUNKÁK.....	330

SZENT-GYÖRGYI ALBERT ORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
ORVOSI BIOLÓGIAI INTÉZET

Orvosi Biológia II. Genetika, humán genetikai alapok

Dr. Molnár János

Szeged
1988

LEKTORÁLTA:

Dr. Béli Iona
egyetemi tanár

92 oldal, fontosabb fejezetek: oldal

1. CITOGENETIKA	9
2. A KLASSZIKUS GENETIKA ALAPJAI	33
3. A GENETIKAI REKOMBINÁCIÓ MOLEKULÁRIS MECHANIZMUSA	43
4. AZ EMBER FORMÁLIS GENETIKÁJA	50
5. MULTIFAKTOROS ÖRÖKLŐDÉS, POLIGÉNÉS ÖRÖKLŐDÉS	62
6. MOLEKULÁRIS (BIOKÉMIAI) GENETIKAI PÉLDÁK A HUMÁN GENETIKA KÖRÉBŐL	67
7. A GENETIKAI BETEGSÉGEK KORSZERŰ DIAGNOSZTIZÁLÁSA, GYÓGYÍTÁS ÉS/VAGY MEGELŐZÉS	86
FONTOSABB FORRÁSMUNKÁK.....	93

I. ÁBRA

Összefoglalva: Hivatalos felmérés szerint is a kilencvenes évek elejéig, a SOTE kivételével, a nem jelentős hangsúly-eltolódásoktól eltekintve a három vidéki orvosegyetemen gyakorlatilag azonos biológia tematikát oktattunk. Ma ez már lényegesen egyszerűbb feladat; a nyolcvanas évek végétől releváns és kiváló tankönyvek, kézikönyvek tucatja szerezhető be a nemzetközi piacon.

Ezek után a **POTE-n eltöltött éveim** néhány tanulságáról szeretnék beszélni.

Az 1954/55-ös tanév végén szigorlatoztam biológiából. Egy aránylag rövid, de meglehetősen kompakt, nem igazán könnyen tanulható jegyzetből készülhettünk fel a vizsgára. Felsőbb évesek toborzása és a magammal hozott érdeklődés nyomán 1955. őszén felvettek az Élettani Intézet biológiai munkacsoportjának tudományos diákkörébe. A kezdetek tehát egybeestek Tigyi András adjunktus vezetői kinevezésével. Jelentős eseménynek tartom, hogy a főhatóság ezekben az években töltötte fel az orvosegyetemek üres álláshelyeit biológusokkal, fizikusokkal, vegyészekkel. Ezzel a korábbiakhoz képest nagyobb és stabil létszám alakult ki.

Kezdetben, szinte kivétel nélkül fiziológiai témákat dolgoztunk ki. Én ugyan már 1959-től nukleinsavakat izoláltam és mennyiségüket mértem különféle szövetekben, de a kérdésfeltevés ezekben az esetekben is alapvetően fiziológiai indíttatású volt. Visszatekintve, hajmeresztőnek tűnik maga az ötlet, hogy a nemzetközileg is jegyzett, magas szinten eredményeket produkáló Élettani Intézetben belül, az akkori politikai és tudománypolitikai légkörben korszerű biológiai kutatás és oktatás feltételei jöhetnek majd létre. Az átalakulás gondjait-bajait kollégáim, barátaim az előzőekben bemutatták. Csupán néhány momentumra szeretnék itt utalni, melyek a távlatos célok melletti kitartásra ösztönöztek.

Romhányi György és még néhány patológus, előadásaikban és egyéb megnyilvánulásaikban tanúsították, hogy a gyakorló orvostudomány igenis igényli a modern biológiai tudást és szemléletet. A környezetünkben lévő biológusok és vegyészek, másfajta neveltetésük okán színesebbé, élénkebbé, ezáltal hasznosabbá tették a diskussziókat. A főhatóságunk által telepített központi laboratórium nehezen túlbecsülhető hatással volt fejlődésünkre. Míg az analitikai ultracentrifuga elsősorban elmélyültebb szakirodalmi olvasottságra ösztönzött, az elektronmikroszkóp ezen túl közülünk néhánynak már egy életre szóló szakmai karriert is adott. Maga az eszköz és a hozzá kapcsolódó módszerek a későbbiekben molekuláris biológiai kutatásainknak és az oktatásnak is részévé váltak.

1966. februárjában a MTA ösztöndíjával utazhattam **Moszkvába**, a Molekuláris Biológiai Intézet Nukleinsavak bioszintézise laboratóriumába, eredetileg 10, majd hosszabbítással **16 hónapra**. Abban az időben az intézetet a biokémia egyik nagy öregje, Engelhardt akadémikus vezette, a fogadó laboratóriumot pedig a fiatal, energikus Georgiev akadémiai levelező tag. A laboratórium már a hatvanas években virágkorát élte. Módszert dolgoztak ki a citoplazma és sejtmagi, riboszómális és nem-riboszómális RNS-ek, valamint azok prekursorainak izolálására, tisztítására. Vizsgálták a szerkezeti tulajdonságokat, a prekursor-produktum összefüggéseket mindkét nukleinsav féleségnél. Tanulmányozták a kromatin szerkezetét és tisztított sejtmag frakcióból a mRNS prekursorát hordozó ribonukleoproteint izoláltak. Eredményeiket a Nature-ben, a BBA-ban és más nemzetközi folyóiratokban is publikálták. Közülük egy tucatnyinak az idézettsége külön-külön meghaladja a 150-200-at.

A moszkvai intézetben Olga P. Szamarina csoportjában dolgozhattam. Gyorsan kiderült, hogy egy nagyon jó helyre, a megfelelő időben érkeztem. A csoport túljutott a technikai nehézségeken és az általuk felfedezett RNP karakterizálásához kezdhetett. A szokásos rutin mellett önálló feladatként kaptam a ribonukleoprotein partikulumok in vitro reverzibilis disszociációját, azaz a disszociációt követő rekonstrukció kivitelezését, valamint a részecskék fehérje összetételének analízisét poliakrilamid gélelektroforézissel. A közreműködésemmel elért eredményeket publikáló fontosabb közleményeket táblázatba foglaltam (1. táblázat).

1. táblázat

1966-1967. Szovjetunió Tudományos Akadémiája, MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI INTÉZET,
Moszkva. Nukleinsavak Bioszintézise Laboratórium. G.P. Georgiev akadémikus.

	<u>Idézettség</u>
Samarina, O.P., A.A. Krichevskaya, J. Molnar, V.I. Bruskov, G.P. Georgiev: Nuclear ribonucleo proteins containing mRNA (isolation and characterization). <i>Mol. Biol. USSR</i> 1, 129-141, 1967.	75
Samarina, O.P., J. Molnar, E.M. Lukanidin, V.I. Bruskov, A.A. Krichevskaya, G.P. Georgiev: Reversible dissociation of nuclear ribonucleoprotein particles containing mRNA into RNA and protein. <i>J. Mol. Biol.</i> 27, 187-191, 1967.	61
Molnar, J., O.P. Samarina, G.P. Georgiev: Nuclear ribonucleoproteins containing mRNA 5. Protein composition of the particles. <i>Mol. Biol. USSR</i> 2, 795-806, 1968.	21
Samarina, O.P., E.M. Lukanidin, J. Molnar, G.P. Georgiev: Structural organization of nuclear complexes containing DNA-like RNA. <i>J. Mol. Biol.</i> 33, 251-263, 1968.	534
Molnar, J.: Protein composition of the messenger RNA-containing ribonucleoprotein of the nucleus. <i>A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.</i> 4, 1-13, 1969.	7

A partikulumokat sejtmag frakcióból izoláltuk. Az extrakciót híg sóoldattal végeztük, jeges vízfürdőben, néhányszor 10-15 perces kevergetéssel. Ilyenkor az újonnan szintetizált, nem-riboszóma, sejtmagi RNS 50-60%-a az extraktumba kerül. Az extraktum 15-30%-os lineáris szacharóz grádiens ultra-centrifugálásakor az RNP 30S szedimentációs koefficienssel ülepedik. Az így izolált és formalinnal fixált partikulumok izopiknikus CsCl grádiensben homogén, 1,4 g/cm³ rétegben találhatóak, tehát az RNS:fehérje arány az 1:4 aránynak felel meg. A fixált partikulumok mérete elektronmikroszkópos vizsgálattal 20 nm. Már 0,7 M KCl, vagy NaCl oldatban, vagy 4 M ureában a partikulumok RNS-re és fehérjére disszociálnak. A disszociáló ágens eltávolítása után a fehérjék és az RNS ismét 30S részecskékké áll össze (self-assembly). A 30S partikulumok fehérje összetételét poliakrilamid gélben, ún. disc elektroforézissel, vizsgáltuk. Abban az időben az SDS-t elektroforézissel együtt még nem alkalmazták, ezért a kisebb felbontású anionos és kationos rendszert használhattuk. Ilyen körülmények között a partikulumok 3 fő és néhány kis mennyiségű fehérje komponenssel jellemezhetők. Erre az időszakra esett az ún. polipartikulumok felfedezése. Amennyiben a sejtmag-izolálást, a partikulumok extrakcióját és a grádiens-centrifugálást RNáz inhibitor jelenlétében végezzük, poliszóma-szerű szedimentogramot kapunk. Ha a grádiens-centrifugálás előtt enyhe RNáz kezelést végzünk, ismét a 30S partikulum lesz a jellemző. A fixált polipartikulumok úszó denzitása megegyezik a 30S partikulumokéval. Azonos a fehérje-összetétel is. A polipartikulumokból izolált RNS mérete a növekvő komplexek méretével arányosan egyre nagyobb. Mindezen adatokból modellt lehetett szerkeszteni, mely szerint a mRNS prekuzora a szintézist követően viszonylag egyszerű összetételű fehérje partikulumokra tekeredik. Az RNS nagyobb része a magon belül degradálódik, a megrövidült,

érett mRNS szekvenciák pedig a mag pórusain keresztül a poliszómák állományába kerülnek, miközben a maghátyánál "átöltöznek", tehát a partikulumok fehérjéi a sejtmagban maradnak.

Hazatérésem után, miközben kandidátusi értekezésemet írogattam, Komáromy Lászlóval és Juhász Péterrel lelkesen terveztük a téma folytatását. Számunkra a leginkább izgalmas kérdésnek a mRNS nagyméretű prekuzora sejtmagon belüli megrövidülése és a szelektív nukleo-citoplazmatikus transzport tűnt. Megjegyzem, ezekben az években a poli/A/-t és a cap-et, sem a splicing folyamatokat, de még a nukleoszóma-szerkezetet sem ismertük. A témával foglalkozó néhány vezető laboratórium között a vita tárgyát az képezte, hogy az érett mRNS az óriás-prekuzor 5'-végéből, 3'-végéből, vagy netán a közepéből szakad ki. Azt gondoltuk, hogy a sejtmagi RNP összetételében és fizikai-kémiai tulajdonságaiban olyan heterogenitás lehetséges, mely képes szelektálni a sejtmagban maradó és a funkcionális, transzportra kerülő szekvenciák között. A tökéletes elégedettséghez csupán egy dolog hiányzott; az egyetemen nem volt használható kilendülő-poharas preparatív ultracentrifuga. Juhász Péter abban az időben mindent megkromatografált, javaslatára ezt tettük a sejtmag extraktummal is. A Sephadex G 200 volt kezdetben a számunkra elérhető maximum.

0,3 M KCl oldat a partikulumok fehérje összetételét és fizikai-kémiai paramétereit még nem befolyásolta, viszont, ha a sejtmag frakció hagyományos extrakcióját egy ilyen só-összetételű oldattal folytattuk, az újonnan szintetizált pre-mRNS szekvenciák 50-60%-on túli, további 20-25%-a volt kinyerhető. Ez az RNP frakció a hagyományosnál nukleinsavban szegényebbnek, a partikulumok méretét tekintve heterogénebbnek bizonyult. Eltérést találtunk a fehérje-összetételben, az RNáz-érzékenységben és néhány egyéb paraméterben. Sajnos, akkor még nem volt cDNS, nem volt a sejtmagban degradálódó RNS frakcióra próba, így a lényeg csak diszkusszió tárgya lehetett. Azt is láthattuk, hogy a gél-kromatográfia nem tökéletes szeparációs eszköz, később sem alkalmazták kiterjedten ilyen célra. Rengeteget dolgoztunk, sokat publikáltunk, bár a nemzetközi lapokat nem mertük megcélozni (2. táblázat). Néhány megállapításunk másutt, később előkerült, s a problémák egy részére, megfelelő eszközök birtokában érdemes lett volna újra visszatérni, de akkor már mással voltunk elfoglalva.

2. táblázat

1968-1973. POTE Biológiai Intézet:

- Molnár, J.: A sejtmag mRNS-t tartalmazó ribonukleoprotein komponensének szerkezeti elemzése. *Kandidátusi értekezés tézisei. 1968.*
- Molnar, J., L. Komaromy: Isolation of nuclear ribonucleoprotein particles containing D-RNA from rat liver by gel-filtration. *A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 7, 151-156, 1972.*
- Molnar, J., P. Juhasz: The heterogeneity of informofer I. Different informofers and their role in the selective transport of nuclear dRNA. *A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 7, 195-206, 1972.*
- Molnar, J., L. Komaromy, A. Tigyí: The heterogeneity of informofer II. Differential effect of Actinomycin-D on nuclear particles containing different types of dRNA. *A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 7, 299-305, 1972.*
- Juhasz, P., J. Molnar: Poliakrilamid gélelektrophogramok közvetlen denzitometriás értékelése Zeiss gyors-fotométeren. *Kísérletes Orvostudomány 24, 668-670, 1972.*
- Komaromy, L., J. Molnar, A. Tigyí: The heterogeneity of informofer III. Electronmicroscopic studies on various types of cell nuclear particles containing dRNA. *A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 8, 132-142, 1973.*
- Juhasz, P., J. Molnar: The heterogeneity of informofer IV. Informofer complexes containing DNA. *A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 8, 231-236, 1973.*
- Molnar, J.: The heterogeneity of informofer V. Effect of KCl on the various types of 30S nuclear particles containing dRNA. *A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 8, 237-244, 1973.*
- Molnar, J., L. Komaromy: Effect of ribonuclease treatment on nuclear, dRNA-containing 30S ribonucleoprotein particles. *A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 9, 73-86, 1974.*
- Komaromy, L., A. Tigyí, J. Molnar: Electronmicroscopic study of the nuclear ribonucleoprotein components containing dRNA. *A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 9, 93-96, 1974.*
- Tigyí, A., J. Molnar, L. Komaromy, P. Juhasz: The heterogeneity of nuclear particles containing pre-mRNA. *Proc. 9th FEBS Meet. Budapest, Akadémiai Kiadó, pp.81-86, 1975.* **Összes idézettség: 12**

A hetvenes évek elején elfogadottá vált, hogy az eukariota mRNS 3'-végén poliadenilsav szekvencia található. A moszkvai laboratórium keresni kezdte jelenlétét a sejtmag extraktumban. Azt találták, hogy a hagyományos sejtmag extrakció a poli(A) blokkot leszakítja, mely azután a szacharóz-grádiens centrifugáláskor az un. "könnyebb" zónában, önálló RNP-ként ülepedik (14S partikulum). 1972-ben meghívtak, hogy a poli(A) RNP karakterizálását náluk befejezzem. Akadémiai ösztöndíjjal, **1973 nyarán** két év időtartamra ismét **Moszkvában** dolgozhattam. Témám a sejtmagi poli(A)-RNP jellemzése és a 30S partikulumok állományában lévő pre-RNS szekvenciák másodlagos szerkezetének tanulmányozása volt (3. táblázat).

3. táblázat

1973-1975. Moszkva, MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI INTÉZET:	<u>Idézettség</u>
<u>Molnár, J.</u> , O.P. Samarina: Protein composition of nuclear 14S ribonucleoprotein particles containing poly(A). <i>Mol. Biol. Rep.</i> 2, 1-10, 1975.	23
<u>Molnár, J.</u> , J. Besson, O.P. Samarina: Secondary structure of pre-mRNA in nuclear ribonucleoprotein particles. <i>Mol. Biol. Rep.</i> 2, 11-17, 1975.	16
Komaromy, L., <u>J. Molnár</u> , A. Tigyí: Electronmicroscopic observations on the poly(A)-RNP component of the pre-mRNA containing nuclear complexes. <i>A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.</i> 10, 207-215, 1975.	3
Samarina, O.P., G. Bajszár, <u>J. Molnár</u> : The starting fragment of pre-mRNA and secondary structure of pre-mRNA in nuclear RNP particles. <i>Proc. 9th FEBS Meet. Budapest, Akadémiai Kiadó</i> , pp. 51-56, 1975.	
<u>Molnár, J.</u> , O.P. Samarina: Purification of nuclear ribonucleoprotein complexes containing poly(Adenylic acid). <i>A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.</i> 10, 263-266, 1975.	2
<u>Molnár, J.</u> , O.P. Samarina: The poly(A)-containing ribonucleoproteins in the nucleus and the cytoplasm of Ehrlich ascites carcinoma cells. <i>A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.</i> 11, 295-303, 1976.	2
Borissova, O.F., <u>J. Molnár</u> , O.P. Samarina: Nuclear ribonucleoproteins containing mRNA 12. Fluorescence studies of the secondary structure of pre-mRNA in nuclear ribonucleoprotein particles. <i>Molek. Biol. USSR</i> 11, 457-465, 1977.	3

A poli(A)-RNP-t elsősorban Ehrlich ascites carcinoma sejtekből izoláltuk, mert az RNS-ben ³²P foszfáttal in vitro magas specifikus aktivitás érhető el. Ez a tisztítási folyamatok során megkönnyíti a nyomkövetést és a bázis-analízist. Az izolálás, tisztítás a sejtmag extraktum szacharóz grádiens centrifugálásával kezdődött. A 14S zóna anyagát RNáz A+T1 kezelést követően ammóniumszulfáttal koncentráltuk és szacharóz-, vagy Cs₂SO₄-grádiensben reszedimentáltuk. Megfelelő eredményeket értünk még el affinitás kromatográfiával poli(dT)-Sepharose oszlopon és speciális körülmények közötti filtrálással, cellulóznitrát filteren. Optimálisan >90% A arányt tudtunk elérni.

A fenti módon tisztított poli(A)-RNP szedimentációs koefficiense 14S, úszó denzitása CsCl egyensúlyi sűrűség-grádiensben 1,36 g/cm³. Fehérje összetétele teljesen eltér a 30S partikulumok fehérje összetételétől. A 14S partikulumok elektronmikroszkópos vizsgálatát Komáromy László végezte. Fémgőzzel árnyékolt preparátumokon 12-14 nm méret adódott.

A hetvenes évek elején egyértelművé vált, hogy a sejtmagi pre-mRNS szekvenciákban jelentős mennyiségben található másodlagos szerkezetek többsége valódi, H-kötésekkel stabilizált kettősláncú struktúra, melyek a genomban jelenlévő palindrómák és egyéb ismétlődő szakaszok lenyomataiként keletkeznek. A moszkvai laboratóriumban külön csoport kutatta a témát. Abban az időben elsősorban a mRNS érésében és a mRNS nukleocitoplazmatikus transzportjának szabályozásában látták a dsRNS szekvenciák funkcionális jelentőségét. Számunkra kézenfekvő volt a kérdés, vajon a hnRNP partikulumokra tekeredett

RNS állományában is megtalálhatók-e a másodlagos szerkezetek, vagy azok csak az RNS extrakcióját követően alakulnak ki.

Az egyik módszer szerint az in vivo radioaktívvá tett RNS-ből intenzív RNáz kezelések után gélszűrőssel izoláltuk és poliakrilamid gélelektroforézissel analizáltuk a partikulumok dsRNS tartalmának méretét és mennyiségét. Két nagyobb frakciót találtunk. Az egyik mérete 180-200 bázispárnyi, a nagyobbik frakcióé pedig néhány tucatnyi. A két frakció együttes mennyisége elérte az RNS 6-8%-át. Egy másik, döntően fizikai, spektroszkópos módszer szerint különféle, RNS-hez kötődő, fluoreszkáló festékekkel vizsgáltuk az izolált partikulumokhoz kapcsolt RNS festék-hozzáférhetőségét és szerkezeti állapotát. Megállapítottuk, hogy az RNS 70%-a a festékek számára hozzáférhető, tehát nagy valószínűséggel felszínes elhelyezkedésű. Ezen belül a kettősláncú szakaszok aránya 20%-ot tett ki. Kontroll-kísérletek alapján legalább ugyanennyi dsRNS a partikulumokban mélyen struktúrált elhelyezkedésű lehet, fehérjékkel szorosan fedve.

Hazatérésemet követően, **1975 közepétől**, de már azt megelőzően is **idehaza** nagyobb eséllyel folytathattuk ezeket a témákat, ugyanis közben lett megfelelő preparatív ultracentrifuga és beszerzésre került korszerű nukleáris béta-spektrométer is. Tomcsányi Tihamérral és néhány fiattal bővült a csoport, ezért több irányban indulhattunk el (*4. táblázat*). Egyrészt folytattuk a 30S partikulumok és a poli(A)-RNP finomabb szerkezetének analizését, másrészt funkcionális próbákkal ellenőriztük, hogy a 30S partikulumok állományában megtalálhatók-e a pre-mRNS 5'-végi metilezett cap szintézisének enzimeit, továbbá, előfordul-e az RNP-ben az RNS szekunder struktúráját hasító enzimaktivitás. Külön kirándulást jelentett a *Drosophila melanogaster* hnRNP partikulumainak karakterizálása és patkánymáj-sejtekben a sejtmagi és poliszómális poli(A)-RNP fehérjéinek összehasonlító elemzése.

4. Táblázat

1975-1977. (és tovább futó kollaborációban) POTE Biológiai Intézet:	<u>Idézettség</u>
Molnar, J., O.P. Samarina: Autodegradation of pre-mRNA containing nuclear ribo-nucleoprotein particles. The effect of autodegradation on the double-stranded RNA sequences and on the protein composition of particles. <i>Mol. Biol. Rep.</i> 3, 195-202, 1976.	6
Tomcsányi, T., J. Molnar, A. Tigyí: Nuclear and polyribosomal ribonucleoprotein particles containing poly(A) in rat liver cells. <i>Mol. Biol. Rep.</i> 3, 99-104, 1976.	5
Komaromy, L., J. Molnar, A. Tigyí: Effect of RNase treatment on the ultrastructure of pre-mRNP containing nuclear particles. <i>A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.</i> 11, 225, 1976.	
Molnár, J.: A sejtmag pre-mRNP komplexei és szerepük a mRNS nukleo-citoplazmatikus transzportjában. <i>MTA doktori értekezés tézisei.</i> 1977.	
Bajszár, G., G. Szabo, A. Simoncsits, J. Molnar: Methylated cap formation by enzymes bound to nuclear inforofer particles. <i>Mol. Biol. Rep.</i> 4, 93-96, 1978.	17
Molnar, J., G. Bajszár, I. Marczinovits, G. Szabo: Cleavage of pre-mRNA sequences by ribonucleases bound to nuclear RNP particles of rat liver. <i>Mol. Biol. Rep.</i> 4, 157-161, 1978.	9
Komaromy, L., J. Molnar, A. Tigyí: Electron microscopic analysis of the partial dissociation of nuclear pre-mRNP particles. <i>A. Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.</i> 13, 171-179, 1978.	2
Szabo, G., I. Marczinovits, L. Komaromy, G. Bajszár, J. Molnar: HnRNP particles from <i>Drosophila melanogaster</i> cells. <i>Mol. Biol. Rep.</i> 7, 221-225, 1980.	4
Marczinovits, I., G. Szabo, L. Komaromy, G. Bajszár, J. Molnar: Isolation and characterization of nuclear hnRNP complexes from <i>Drosophila melanogaster</i> tissue culture cells. <i>A. Biochim. Acad. Sci. Hung.</i> 18, 185-198, 1983.	
Tomcsányi, T., A. Tigyí, J. Molnar: Structural characterization of nuclear poly(A)-protein particles. <i>Eur. J. Biochem.</i> 131, 283-288, 1983.	11

Amint a kérdés-feltevés kissé bonyolultabbra sikerült, azonnal kiderült, hogy sok-sok pénzre és másfajta szakértelemre is szükség lesz. Így, amikor a partikulumok cap-ező aktivitásának tesztelését elterveztük, a Szegedi Biológiai Központban találtuk meg azokat a kollégákat, akik a szubsztrátum speciális ribo-dinukleotidjait szintetizálták és azt, akinek kellő gyakorlata volt a kisebb-nagyobb nukleotidok analizálásában. Megállapítottuk, hogy a 30S

partikulumok guanilil-transzferáz és metiltranszferáz, tehát a metilezett cap szintéziséhez szükséges összes enzimaktivitással rendelkeznek. Ám ezek lazán kapcsolódtak a partikulumokhoz, mert az RNP reszedimentálása után az aktivitások legalább 50%-a elveszett.

Roppant érdekes, bár csekély visszhangot kiváltó eredményekre vezettek az egyes sejtmag frakciók kettősláncú RNS szekvenciákat degradáló aktivitásainak tesztelése. A 30S partikulumok inkubálása önmagukban, 37°C-on, 30 percig (autodegradáció), az ún. hosszú dsRNS frakció (180-200 bp) mennyiségének 40%-os csökkenését eredményezte, de a hosszú és rövid dsRNS összegzett mennyisége a kontrollhoz képest nem változott: Tehát a hosszabb szekvenciák jelentős része darabolódott, rövidebb lett. Ezzel szemben, ha a partikulumokat a sejtmag oldódó fehérjével inkubáltuk, mindkét dsRNS frakció mennyisége jelentősen csökkent, tehát itt már egyéb nukleázok, közöttük exonukleázok is működtek. Vizsgáltuk a 30S partikulumokhoz asszociált endonukleáz típusú, dsRNS-t hasító enzim-aktivitás specifikusát is, fenolos módszerrel izolált kettősláncú RNS szubsztráton. Az enzimaktivitást pirimidinre, elsősorban U-ra specifikusnak találtuk.

A cap-képző aktivitás vizsgálatának megfelelő visszhangja volt (4. táblázat), hiszen abban az időben "mindenki" cap-ezett. Más a helyzet az RNS szekunder struktúráját hasító enzimaktivitásokkal. Csaknem negyed-századnak kellett eltelnie, amíg az elmúlt néhány évben ismét divatba jöttek a kettősszálú RNS molekulák, mint a génaktivitás fontos szabályozó elemei eukariota sejtkben (interferencia RNS, mikro-RNS, s egyik daraboló RNáz, a *dicer*). A dsRNS-nek a mRNS processingben korábban feltételezett szerepét gyorsan elhomályosították a splicing mechanizmusok, a sokféle snRNS, azok ribonukleoproteinjei és a különféle splicing faktorok.

A hetvenes évek végétől nekünk az RNS splicing reakcióival, snRNP-kel illetet volna foglalkozni, de ahhoz sem pénz, sem a modern technikák, közöttük az immunológia és a génebézet nem került elérhető közelségbe. Ezért magam is a nyolcvanas évek elején elszegődtem külföldi laborba egy évre génebézetet és biotechnológiát tanulni, de ez már egy másik történet, más kollaborációkkal a POTE-n is.

Agydaganatok kezelése génterápiás eljárásokkal

Sáfrány Géza¹, Lumniczky Katalin¹, Désaknai Szilvia¹, Hídvégi Egon¹, Ésik Olga²,
Szende Béla³, Hamada Hirofumi⁴

¹Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézet, Budapest; ²Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Onkoterápiás Tanszék, Pécs;

³Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, I. sz. Patológiai és Kísérletes Rákkutató Intézet, MTA-SE EKSZ Molekuláris Patológiai Kutató Csoport, Budapest; ⁴Sapporo Medical University, Sapporo, Japán

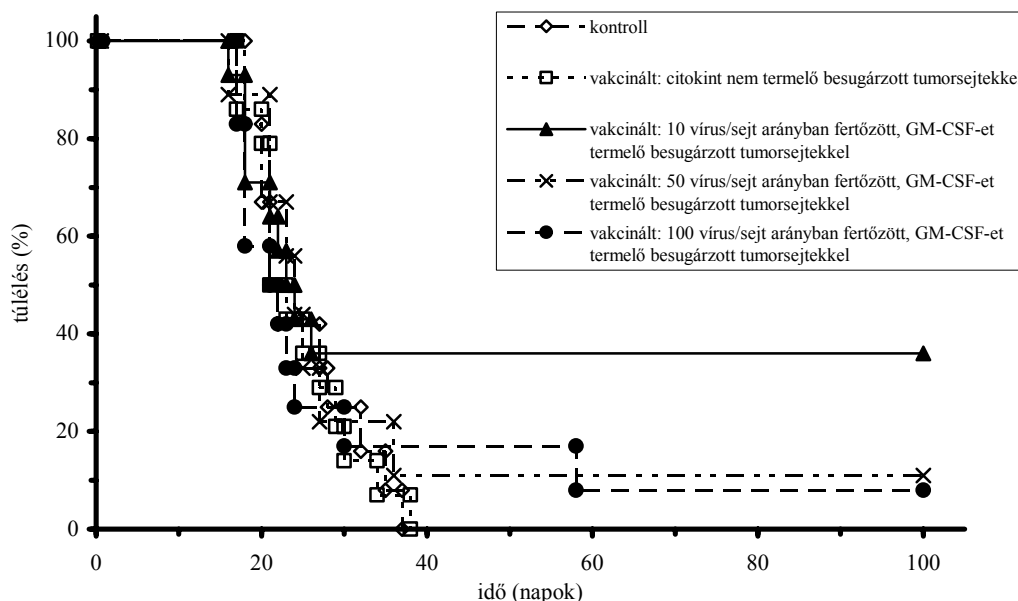
A daganatos megbetegedések jelentős részének a prognózisa hagyományos kezelési eljárások mellett meglehetősen rossz. A glioblasztomás betegek átlagos túlélése nem éri el az egy évet. Ezért indokolt és szükségszerű új terápiás eljárások kidolgozása, a klinikai gyakorlatba történő bevezetése. A hagyományos terápiás eljárások mellett egyre terjed a génterápia alkalmazása is rosszindulatú daganatok kezelésére. Mi két új génterápiás modalitást alkalmaztunk sugárterápiával kombinálva egér agydaganatok kezelésére. Az első eljárás során a daganatellenes immunválaszt kívántuk erősíteni citokin termelő, autológ daganatsejt vakcinák alkalmazásával. A második eljárás során a daganatok kemoterápiás szerek iránti érzékenységét akartuk fokozni gyógyszer-érzékenyítő génterápiával.

Citokin termelő daganatsejt vakcinák alkalmazása agydaganatos egerek kezelésére

A sebészi és sugárterápiás kezelés korlátjai miatt nagy jelentősége van új eljárások kidolgozásának agydaganatok terápiájára. Az általunk alkalmazott terápiás módszer a beteg immunrendszerét próbálja aktiválni a daganat ellen és az immunterápiát lokális sugárterápiával is kombináltuk. A módszer alapja hogy, a sebészi úton eltávolított daganatból sejt kultúrát készítünk, majd a sejt kultúrában növekvő sejtekbe adenovírus vektorok segítségével citokineket kódoló géneket viszünk be. A citokin termelő sejteket a sejtosztódás leállítására ionizáló sugárzással besugarazzuk és a kezelt sejtekkel az agydaganatos beteget vakcináljuk. Azt várjuk, hogy a citokin termelő sejtekkel végzett vakcináció hatására az immunrendszer aktiválódik az adott daganat ellen és elpusztítja a primer daganat helyén, valamint a metasztázisokban jelenlévő daganatsejteket. Ezt az eljárást agydaganatos egereken próbáltuk ki.

Agydaganat indukciójának céljából C57Bl/6 egerekre intracraniálisan egér glioma 261 (Gl261) sejtet oltottunk. A vakcina készítéséhez sejtenyészeten növekvő Gl261 sejteket különböző citokineket (IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, GM-CSF, LIF, LT, TNF α) kódoló adenovírus alapú vektorral fertőztük különböző vírus/sejt arányban. A vírusvektor alkalmazása

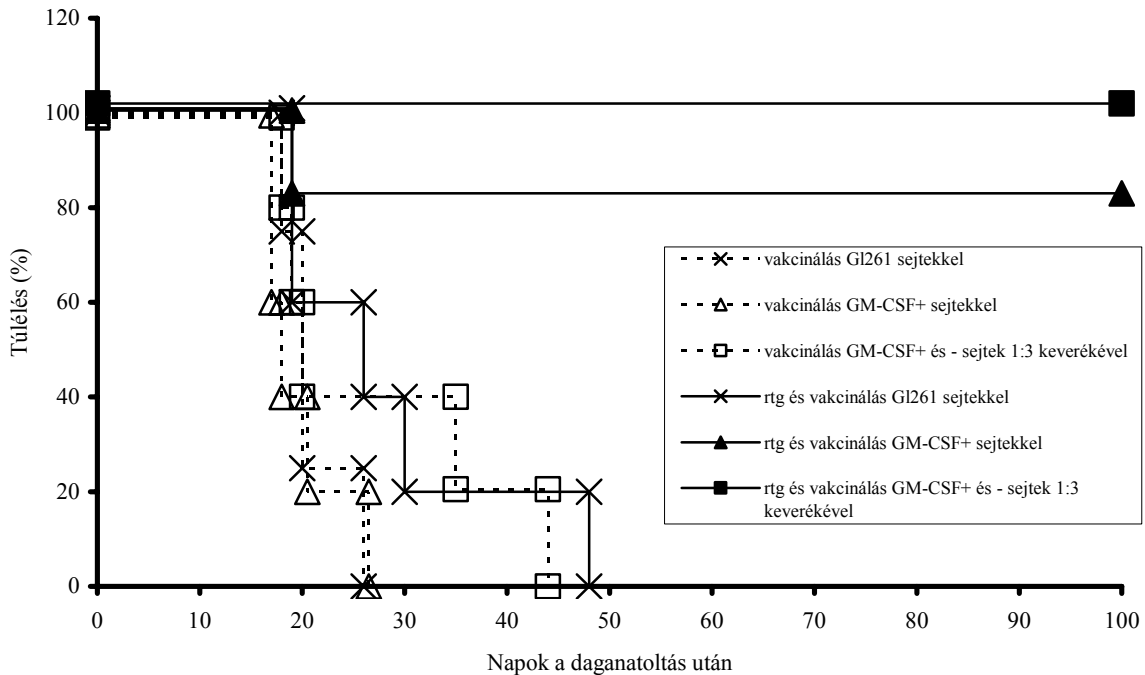
azért szükséges, mert csak ennek használatával érhető el százszázalékos határfokú génbevitel. A különböző vírus/sejt arányú fertőzéssel a vakcina által termelt citokinek mennyiségét tudtuk változtatni. Negyvennyolc órával a vírusfertőzés után a citokin termelő sejteket 20 Gy Co^{60} - γ sugárzással besugaroztuk és tripszin kezeléssel begyűjtöttük. A besugárzás leállítja a sejtek osztódását, gyakorlatilag elpusztítja őket. A sejtpusztulás azonban egy egyhetes intervallum után következik be, ez alatt a sejtek citokin termelése zavartalan. A vakcina terápiás hatásának a vizsgálatára agydaganatos egereket subcután oltottunk 1×10^6 mennyiségű citokin termelő, besugarozott GI261 sejttel. A vakcinációt mindig a tumor transzplantációt követő harmadik napon végeztük. Nyomon követtük az állatok túlélését. A 1. ábrán megfigyelhető, hogy a GM-CSF-et termelő autológ daganatsejtekkel végzett vakcináció az agydaganatos egerek egy részénél teljes gyógyulást eredményezett. A legkedvezőbb hatást akkor kaptuk, ha a GM-CSF-et termelő vakcinát a GI261 sejtek 10 vírus/sejt arányú fertőzésével készítettük. Ekkor az agydaganatos egerek 30-40%-a gyógyult meg. Ha a vakcina készítése során magasabb vírus/sejt arányú fertőzést (50, 100) alkalmaztunk, a terápiás hatás kisebb volt (1. ábra). Ha a GM-CSF-et termelő vakcina készítéséhez még magasabb (200, 300) vírus/sejt arányt alkalmaztunk, a terápiás hatás eltűnt (ld. később).



1. ábra. Agydaganatos egerek túlélése GM-CSF-et termelő daganatsejtekkel történő vakcinálás után.

IL-2-t, IL-4-et és IL-12-t termelő sejtekkel végzett vakcináció is meggyógyította az agydaganatos egerek egy részét (20-30%), de az optimális citokin szint minden egyes vakcina esetében egyedi volt. Az IL-6-ot, IL-7-et, $TNF\alpha$ -át, LIF-et, illetve LT-t termelő vakcinák esetében semmilyen szignifikáns terápiás hatást nem észleltünk agydaganatos egerekben (az adatokat nem mutatjuk).

Tanulmányoztuk a lokális sugárterápia és a GM-CSF-et termelő sejtekkel végzett vakcináció kombinált terápiás hatását is. A 4 Gy sugárdózissal végzett sugárterápia meghosszabbította az agydaganatos állatok túlélését, de önmagában teljes gyógyulást nem eredményezett (2. ábra). A vakcina készítéséhez a GI261 sejteket 300 vírus/sejt arányban fertőztük GM-CSF-et kódoló adenovírus alapú vektorral. Az e sejtekkel végzett vakcinációnak



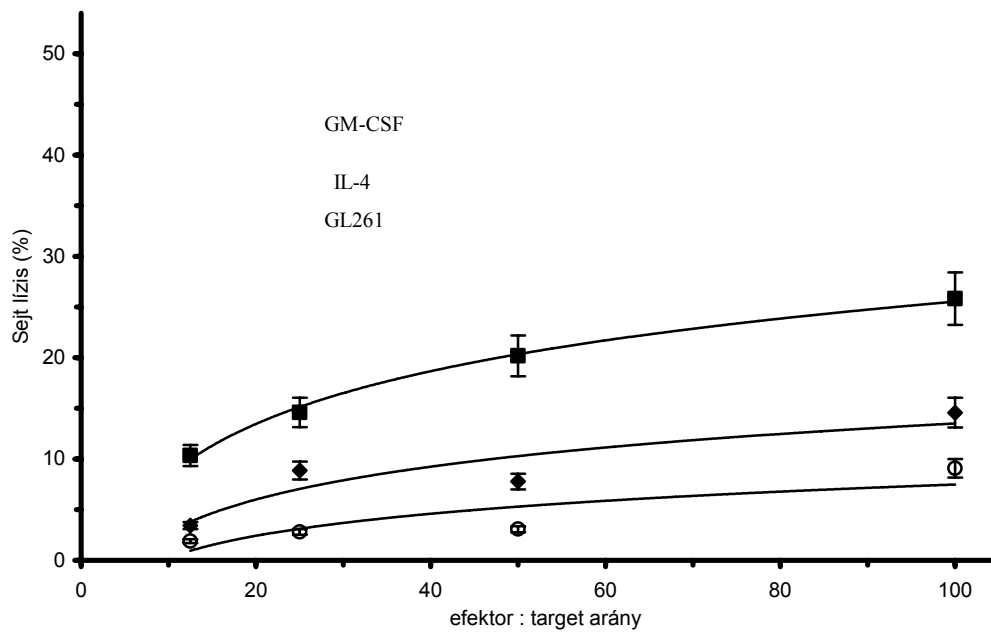
2. ábra. A vakcinációs terápia és a lokális sugárterápia kombinált hatása agydaganatos egerekben.

terápiás hatása nincs (2. ábra). A GM-CSF szint csökkentésére a GM-CSF-et termelő sejteket GM-CSF-et nem termelő sejtekkel kevertük 1:3 arányban. Az 1:3 arányú vakcina keverékkel végzett terápia során minimális túlélés növekedést figyelhetünk meg (2. ábra). Ha a vakcinációt lokális sugárterápiával kombináltuk az agydaganatos egerek 80-100%-ánál teljes gyógyulást értünk el (2. ábra).

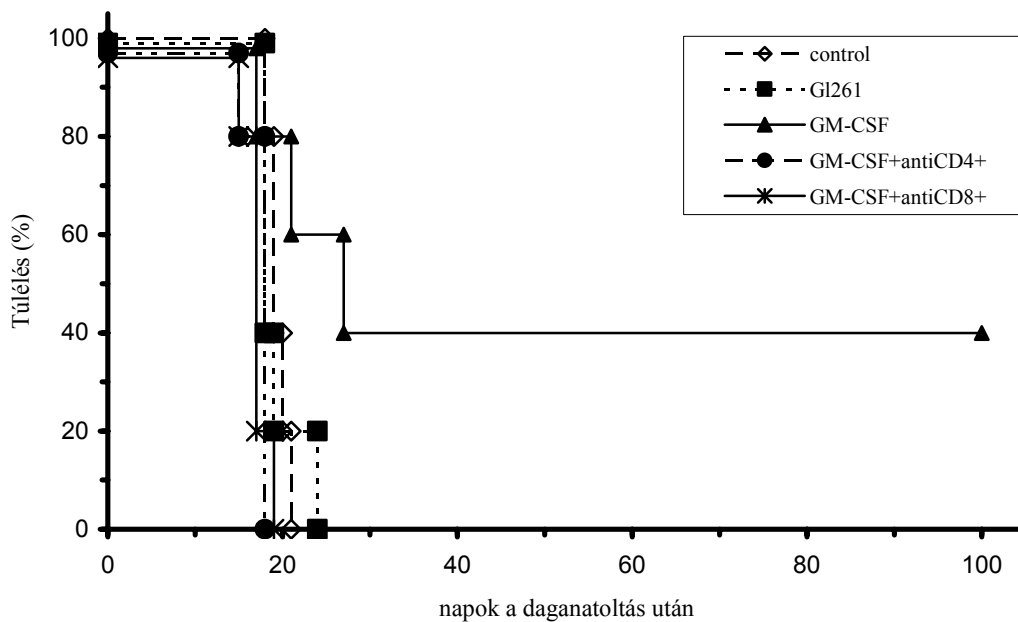
A vakcinációs terápia hatására nagy valószínűséggel a citotoxikus T limfociták aktiválódnak a daganatok ellen. Ennek vizsgálatára egészséges egereket GM-CSF-et, vagy IL-4-et termelő, illetve citokineket nem termelő, 20 Gy sugárdózissal besugárzott GI261 sejtekkel vakcináltunk. A vakcináció után, különböző időpontokban az állatokat megöltük, a lépet eltávolítottuk, és a lépből limfocita szuszpenziót készítettünk. Az így nyert limfocitákat IL-2 jelenlétében DMEM + 10% borjú szérum tartalmú sejt kultúra médiumban öt napig együtt tartottuk 20 Gy ^{60}Co - γ sugárdózissal előlt GI261 sejtekkel. Ezen előkezelés következtében az *in vivo* vakcináció hatására aktiválódtak limfociták felszaporodnak. Az így előkezelt limfocitákat élő, ^{51}Cr izotóppal jelölt GI261 sejtekkel kevertük különböző arányban. A GI261 sejtekből felszabaduló ^{51}Cr mérésével nyomon követtük a GI261 sejteknek az aktiválódtak citotoxikus T (CTL) limfociták hatására bekövetkező pusztulását. A 3. ábrán megfigyelhető, hogy GM-CSF-et, illetve IL-4-et termelő vakcinák hatására bekövetkezett a citotoxikus T limfociták daganatsejtek elleni aktivációja.

A következőkben azt is tanulmányoztuk, hogy milyen limfocita szubpopuláció aktiválódik a citokin termelő daganatsejtekkel végzett vakcináció hatására. Agydaganatos egereket különböző citokineket termelő daganatsejtekkel vakcináltuk és immun-hisztokémiai eljárással vizsgáltuk, hogy milyen limfocita szubpopulációk jelennek meg a daganatos területen. Ha az agydaganatos egereket olyan vakcinákkal kezeltük, amelyeknek terápiás hatása nem volt, limfocita beszűrődést nem tudtunk kimutatni. Ha a vakcinációt terápiás hatású, IL-2-t, IL-4-et, IL-12-t, vagy GM-CSF-et termelő GI261 sejtekkel végeztük az agydaganat területén igen erős CD4^+ beszűrődést tapasztaltunk. A GM-CSF-et termelő

daganatsejtekkel végzett vakcináció esetén $CD8^+$ limfociták is kimutathatók voltak a daganatban (az adatokat nem mutatjuk).



3. ábra. Citotoxikus T limfociták indukciója citokin termelő sejtekkel végzett vakcináció hatására.



4. ábra. Különböző limfocita szubpopulációk szerepe az immunrendszer aktivációjában.

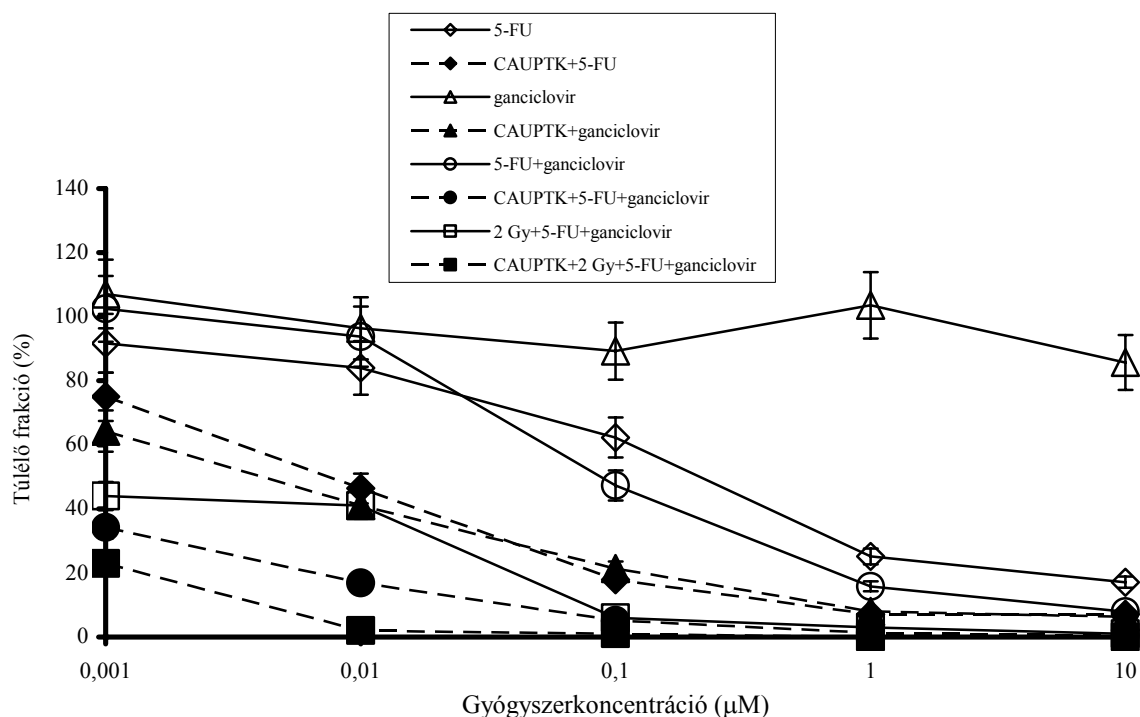
Annak bizonyítására, hogy a $CD4^+$ és $CD8^+$ limfocita populációk valóban szerepet játszanak a citokin termelő daganatsejtekkel végzett vakcináció terápiás hatásában, egészséges

egereket anti-CD4⁺, vagy anti-CD8⁺ ellenanyagokkal előkezeltük. Az előkezelés eltávolította az egerekből a megfelelő limfocita populációkat. Ez után az egerekben GI261 sejtek intracraniális oltásával agydaganatot keltettünk, és a daganatos egereket GM-CSF-et termelő sejtekkel vakcináltuk. A 4. ábrán megfigyelhető, hogy az anti-CD4⁺, vagy anti-CD8⁺ ellenanyagokkal végzett előkezelés meggátolta a GM-CSF-et termelő vakcina terápiás hatását, bizonyítva, hogy a megfelelő limfocita szubpopulációknak alapvető szerepe van a citokin termelő daganatsejtekkel végzett vakcináció terápiás hatásában.

Gyógyszer-érzékenyítő gének alkalmazása

Kidolgoztunk egy olyan génterápiás eljárást, amellyel megnövelhető a rosszindulatú daganatok kemoterápia iránti érzékenysége. A kemoterápiás szerek iránti érzékenyítés alapja az, hogy génszintézeti úton módosított daganatsejtekben olyan enzimek termelődnek, amelyek kemoterápiás szerekből aktív metabolitokat készítenek. Ezáltal a szisztémásan adott kemoterápiás gyógyszerek daganaton belüli lokális koncentrációja jelentősen megnő és fokozott terápiás hatás érhető el. Az eljárás segítségével elsősorban a primer daganat gyógyítható. A leggyakrabban használt gyógyszer-érzékenyítő eljárás a timidin kináz - ganciklovir rendszert alkalmazza. A ganciklovir önmagában nem toxikus emberi sejtekre. Az eljárás során a kezelendő sejtekbe beviszik a herpes simplex vírus timidin kináz (TK) génjét. A TK enzim foszforilálja a ganciklovirt és a keletkező metabolit gátolja a DNS polimerázokat. A gátlás hatására a TK gént tartalmazó sejtek elpusztulnak.

Egy másik potenciális gyógyszer-érzékenyítő gén az E. coli uracil-foszforibozil transzferáz (UPRT) enzimje. Az UPRT a daganat terápiában gyakran használt 5-fluorouracil (5-FU) fokozott metabolikus aktivációjában játszik szerepet.



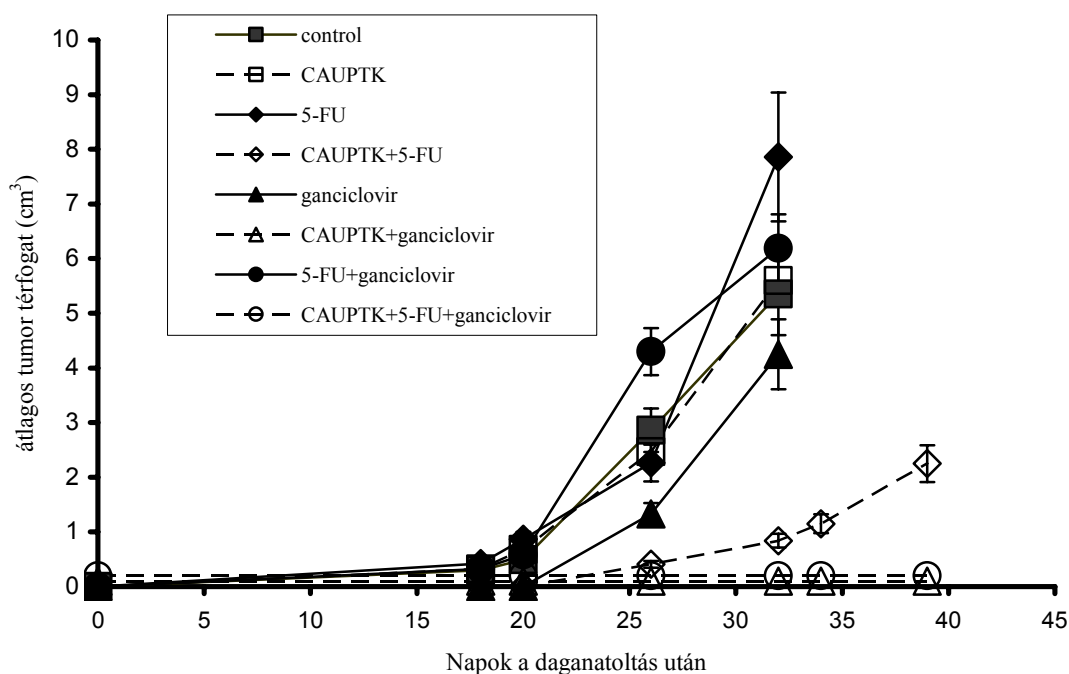
5. ábra. Gyógyszer-érzékenyítő gének bevitelével fokozható a megfelelő drog citotoxikus hatása.

Eddigi vizsgálataink során kialakítottunk egy olyan adenovírus alapú vektorrendszert (CAUPTK), amely mind a TK, mind pedig az UPRT géneket tartalmazza. Tanulmányoztuk,

hogy a CAUPTK vektor glioma sejtekbe történő bevitele mennyiben fokozza a megfelelő gyógyszer kombináció iránti érzékenységet *in vitro* és *in vivo* körülmények között.

Elsőként a GI261 sejtek *in vitro* 5-FU és ganciklovir érzékenységét és ennek CAUPTK transzdukciónak hatására történő változását tanulmányoztuk. A ganciklovir önmagában nem toxikus a vírussal nem fertőzött sejtekre. A sejtek CAUPTK-val történő fertőzése után viszont már jelentős citotoxicitást észleltünk (5. ábra). Az 5-FU önmagában is csökkentette a sejt számot, mivel az eukarióta sejtek képesek a gyógyszert metabolizálni. Az 5-FU citotoxikus hatása azonban lényegesen fokozódott az UPRT gént kódoló vírus jelenlétében. A nem transzdukált GI261 sejtek kombinált kezelése 5-FU-val és ganciklovirral hasonló hatású volt, mint az 5-FU kezelés önmagában. Ezzel szemben az érzékenyítő génnel transzdukált sejtek kombinált kezelésekor jelentősen nagyobb citotoxikus hatás volt észlelhető, mint az 5-FU vagy ganciklovir monoterápia esetében (5. ábra). Amennyiben a gyógyszer-érzékenyítő gének bevitelét a sejtek besugárzásával kombináltuk a citotoxikus hatás több nagyságrenddel nőtt (5. ábra).

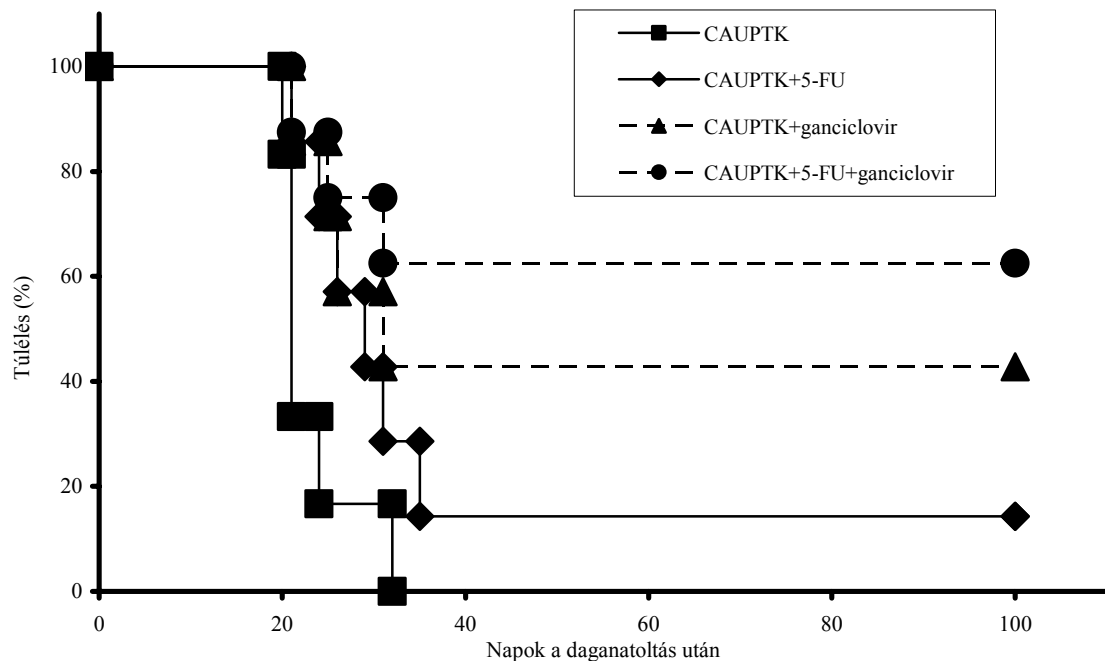
A gyógyszer-érzékenyítő génterápia hatását subcután és intracraniális tumor modellen is vizsgáltuk. Subcután, ill. intracraniális tumorokat hoztunk létre érzékenyítő géneket tartalmazó GI261 sejtek oltásával. A TK és az UPRT gének bejuttatásához GI261 sejteket fertőztünk CAUPTK-val 100 vírus/sejt arányban, két nappal a tumor transzplantáció előtt. A kontroll állatokat nem transzdukált GI261 sejtekkel oltottuk. A kontroll egerek tumor növekedésében nem volt lényeges különbség, hasonló ütemben nőttek a kezeletlen és az 5-FU-val vagy/és ganciklovirral kezelt állatok tumorai is. Ezzel szemben, ha a daganatot a CAUPTK vírust tartalmazó sejtek oltásával indukáltuk, az 5-FU-val, ganciklovirral valamint mindkét gyógyszerrel kezelt állatok tumor növekedése lényegesen lassabb volt, illetve a tumor ki sem alakult (6. ábra).



6. ábra. Gyógyszer-érzékenyítő gének jelenlétében nő a megfelelő drog *in vivo* hatása szubcután tumorokra.

Hasonló eredmények voltak megfigyelhetők az agytumoros egereknél is. Valamennyi kontroll állat elpusztult 3-4 héttel a tumor transzplantáció után és az összes kezeletlen, de

gyógyszer-érzékenyítő gént tartalmazó állat is elpusztult (7. ábra). Ezzel szemben az 5-FU-val kezelt, érzékenyítő génet tartalmazó állatok 10-20%-a, a ganciklovirral kezelték 40-50%-a meggyógyult. Leghatékonyabbnak a kombinált kezelés bizonyult, ahol a túlélés elérte a 60-80%-ot, ami megerősítette az *in vitro* kísérletek eredményeit, miszerint legnagyobb citotoxikus hatása a kombinált kezelésnek van.

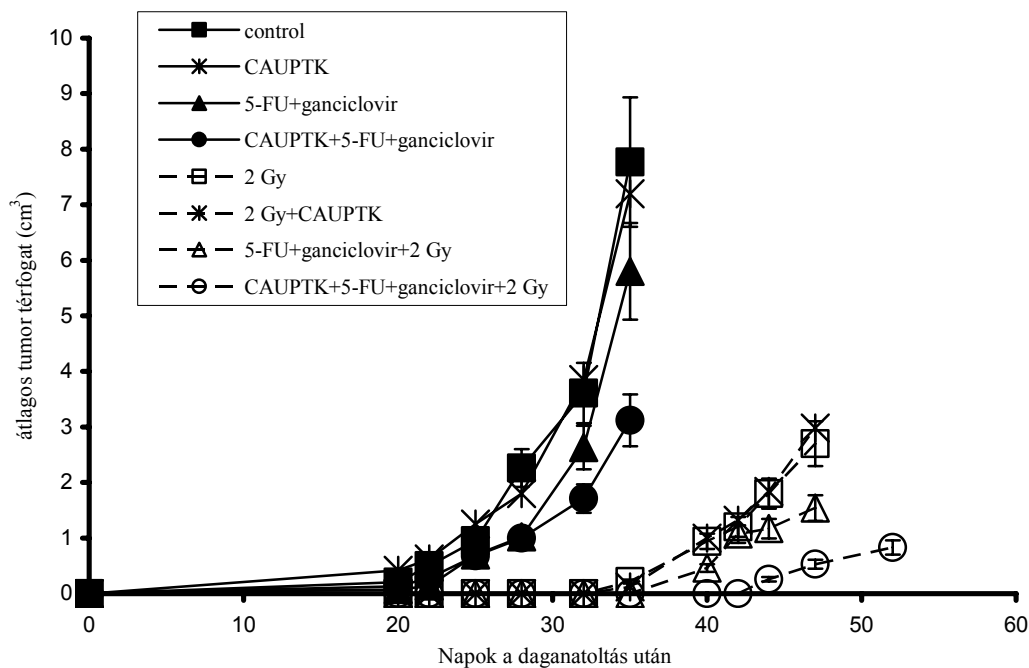


7. ábra. Gyógyszer-érzékenyítő gének jelenléte fokozza a megfelelő drog terápiás hatását agydaganatokra.

Az eddig említett kísérleteknél a daganatot olyan GI261 sejtekkel oltásával indukáltuk, amelyekbe a daganat indukció előtt *in vitro* körülmények között vittük be a gyógyszer-érzékenyítő génet. Ezek a kísérletek, gyakorlatilag arra alkalmasak, hogy megmutassák, a rendszer működőképességét. A klinikai körülmények jobb modellezésére ezért, utolsó kísérletünkben bőr alatti daganatot indukáltunk gyógyszer-érzékenyítő génet nem tartalmazó GI261 sejtek oltásával. Ez után a bőr alatt növe daganatokba injekcióztuk az érzékenyítő génet tartalmazó adenovírus vektort. A vírus injekció után az egereket ganciklovirral, 5-FU-val és sugárterápiával kezeltük. Megfigyelhető, hogy a gyógyszer-érzékenyítő génterápia lényegesen csökkentette a daganatok növekedését. A terápiás hatást jelentősen fokozta a sugárterápiával való kombináció (8. ábra).

Konklúzió

Kísérleteink bizonyították, hogy mind a citokin termelő daganatsejtekkel végzett vakcináció, mind pedig a gyógyszer-érzékenyítő génterápia jelentősen javította az agydaganatos egerek túlélési esélyeit. Mindkét terápiás modalitás igen eredményesen kombinálható lokális sugárterápiával.



8. ábra. Gyógyszer-érzékenyítő génterápia és sugárterápia kombinált hatása szubkután daganatok növekedésére.

Irodalom

1. Désaknai, Sz., Lumniczky, K., Hídvégi, E.J., Hamada, H. and Sáfrány G. Brain tumor treatment with IL-2 and IL-12 producing autologous cancer cell vaccines. *Adv. Exp. Med. Biol.* 495. 369-372. 2001.
2. Lumniczky, K., Désaknai, Sz., Mangel, L., Szende, B., Hamada, H., Hídvégi, E.J., and Sáfrány G. Local tumor irradiation augments the antitumor effect of cytokine-producing autologous cancer cell vaccines in a murine glioma model. *Cancer Gene Ther.* 9. 44-52. 2002.
3. Désaknai, Sz., Lumniczky, K., Esik, O., Hamada, H. and Sáfrány G. Local tumour irradiation enhances the anti-tumour effect of a double-suicide gene therapy system in a murine glioma model. *Gene Med.* 5. 377-385. 2003

Az utolsó 11 év

Szeberényi József

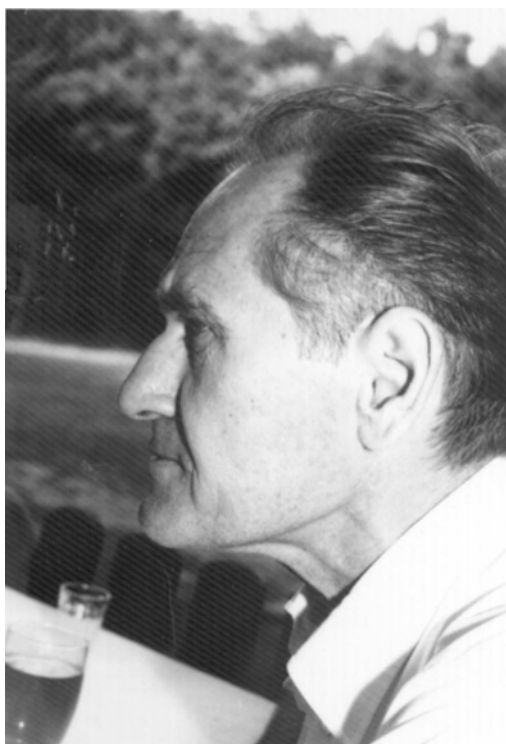
Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Biológiai Intézet

Az utolsó 11 év 1992 nyarán kezdődött: Tigyi András professzor az intézet igazgatója június 30-ával nyugdíjba ment, engem pedig Göncz Árpád köztársasági elnök 1992. június 29-én egyetemi tanárrá nevezett ki, Kelényi Gábor professzor, a Pécsi Orvostudományi egyetem rektora pedig július 1-jével megbízott az intézet igazgatói teendőinek ellátásával. Olyan intézetet vehettem át, mely a jövőt illetően biztos alapokat, de komoly kihívásokat is jelentett. Az Orvosi biológia tárgyat évtizedek tapasztalatai alapján kiérlelt tematika és koncepciózus oktatásmódszertani fegyvertár jellemezte. A sejt- és molekuláris biológiai kutatások alapfeltételei megvoltak, de – mint valószínűleg a legtöbb kutatóhely ebben az időben – az intézet súlyos, krónikus pénziánnyal küzdött. Tapasztalt, lelkiismeretes, jól képzett asszisztenciához fiatal, lelkes, de rutintalan oktatói kar csatlakozott (természetesen leszámítva az idősebb vezető oktatókat /Tigyi, Komáromy, Szeberényi/). Ilyen körülmények között indult az intézet új időszaka.

Az oktatás elmúlt 11 éve

Tigyi András oktatási hagyatéka

Az Orvosi biológia tárgy oktatásának kialakítása és fejlesztése során *Tigyi András* az orvosképzés legmodernebb princípiumait tartotta szem előtt. Alapelve volt a *tananyag folyamatos modernizálása*. 6-8 évenként felújított, átdolgozott jegyzetei megjelenésükkor pontosan tükrözték a molekuláris és sejtbiológia aktuális állását, a közbeeső időszakokban pedig folyamatosan építette be a tudományág új felfedezéseit előadásai anyagába. Ezzel párhuzamosan egyre erőteljesebben hangsúlyozta a *molekuláris biológia fontosságát az orvostudományban*. Tigyi András elsőként vezette be az *objektív vizsgáztatást* az orvosképzésben (1). Több ezer feleletválogatós tesztkérdésből álló tesztbankot hozott létre. A tesztvizsgáztatás során kiderültek a hagyományos multiple-choice kérdések korlátai is: a teszfeladatok jelentős része csak a hallgatók lexikális tudását ellenőrzi, nem alkalmas a kreatív gondolkodás készségének mérésére. Új utakat keresve talált rá a 70-es években a *probléma-alapú tanulás (problem-based learning)* azidőben népszerűvé váló, egyre terjedő koncepciójára és alkalmazta azt a sejtbiológia oktatásában (2). A tárgy experimentális, probléma-megoldó szemléletű oktatásának tapasztalatairól később nemzetközi fórumokon is beszámoltunk (3). Tigyi András intézet igazgatói és oktatásszervezői tevékenysége során mindig sokat adott a hallgatók véleményére: nevéhez fűződik a hallgatói *feed-back felmérések* bevezetése a Pécsi Orvostudományi Egyetemen (4). Az intézet oktatóinak közreműködésével az 1990-es évek elejére Tigyi András az orvosi biológia modern tartalmú és innovatív eszközökkel oktatott tárgyát alakította ki.



Tigyi András 1983-ban

A molekuláris sejtbiológia oktatása az elmúlt évtizedben

Intézet igazgatói kinevezésem után ezt a kész oktatási rendszert vehettem át. Az oktatást Tigyi professzor jegyzete alapján kezdtük meg (5) és a következő években a biológia gyors fejlődésének megfelelően fejlesztettük tovább. Az elméleti tananyagban megnöveltük a daganatbiológia, szignál transzdukció, molekuláris medicina súlyát (6-8), egyszerű molekuláris biológiai kísérletek beállításával pedig modernizáltuk gyakorlatos programunkat (9, 10). A tananyagfejlesztés során – követve a nemzetközi tendenciákat – hangsúlyt helyeztünk a *sejtbiológia és molekuláris biológia integrálására*. Hasonlóan fontosnak tartottuk a tárgy klinikai vonatkozásainak hangsúlyozását is. Ennek egyik példjaként említtem meg a Kosztolányi György professzorral éveken keresztül közösen tartott „Molekuláris medicina” című kreditkurzust, melyben érdekes orvosi problémákról (mozaikosság, mikroszatellit-instabilitás által okozott betegségek, génterápia, embrió klónozás, stb.) beszéltünk klinikai genetikai illetve molekuláris biológiai megközelítésből.

Tantárgyunk oktatásának kulcseleme maradt a *probléma-orientált oktatás/tanulás* elvének alkalmazása. Az elmúlt negyedszázadban több oktatási és vizsgáztatási módszert vezettünk be a molekuláris sejtbiológia oktatásában (eredeti közleményekből származó ábrák elemzése; a kísérleti leírásokba épített tesztkérdésekkel konstruált objektív probléma-megoldó vizsgalapok alkalmazása; kísérlettervező esszékérdések feladása; interaktív komputerprogramok készítése). Tesztjeinket összefoglaló kiadványokban publikáltuk (11, 12), tapasztalatainkról hazai és nemzetközi fórumokon számoltunk be (13-24). Probléma-megoldó feladatokon alapuló oktatási szisztémánk vegyes fogadtatásban részesült. Orvosképzési konferenciákon gyakran ért bennünket a vád, hogy maximalisták vagyunk, túl sokat követelünk a hallgatóktól. Mindig akadt azonban egy-két lelkesedő kolléga, egyetemi oktató vagy középiskolai biológia tanár, aki érdekesnek találta és maga is kipróbálta oktatási módszereinket. Bár medikusaink többsége is idegenkedett az alkalmazásteresztéktől, a biológia

íránt leginkább érdeklődő, legkiválóbb hallgatók „vevők” voltak oktatási stílusunkra, módszerünkre.

A 2003/2004-es tanévtől kezdve tárgyunkat már a *kreditrendszer* keretében oktatjuk. A Molekuláris sejtbiológia kötelező tárgy mindhárom szakon (általános és fogorvosi, gyógyszerész) és az angol nyelvű képzésben, a probléma-megoldást pedig a Molekuláris sejtbiológiai kísérletek című elektív kurzus keretében kínáljuk az érdeklődő hallgatóknak.

A hallgatók visszajelzése az intézet jelenlegi oktatógárdája számára is fontos. Saját *feed-back felméréseket* is végzünk, munkánk késői értékelését pedig, a végzős hallgatók körében végzett közvélemény kutatások adják meg. Az intézet és munkatársai által elnyert oktatási díjak (1. keretes összeállítás) tanúsága szerint a hallgatók értékelik erőfeszítéseinket.

1. Oktatási elismerések

- ❖ A legjobban oktató intézet (1999, 2000, 2001, 2002)
- ❖ Romhányi-emlékérem (Szeberényi J., 1997, 1998, 1999, 2002)
- ❖ Az év legnépszerűbb oktatója (Szeberényi J., 2001, 2003)
- ❖ Kiváló gyakorlatvezető (ifj. Sétáló Gy., 1998; Boglári G. 1999)

Tudományos diákkör

Intézetünk elég népszerű a tudományos kutatást folytatni kívánó hallgatók körében. Általában 6-8 diákkörös dolgozik nálunk, köztük mindig akad néhány, akiket fellelkesít a sejtbiológiai kísérletezés, gyorsan megtanulják a bonyolult sejt- és molekuláris biológiai technikákat és érdemi munkát végeznek. A TDK konferenciákon sikeresen szereplő diákköröseink (2. keretes összeállítás) között érthető módon sokan akadnak, akik azután államvizsga dolgozatukat (3. keretes összeállítás) is tudományos munkájukból írják, néhányan pedig (Kiss Katalin, Fábíán Zsolt, Töröcsik Beáta, Bátor Judit, Szőke Katalin, Berta Gergely) végzés után is nálunk ragadtak.

2. TDK előadások

- ❖ **Bartek Balázs – Kiss Katalin** (1995, Házi TDK konferencia, II. díj; 1995; Országos TDK konferencia I. díj)
- ❖ **Fábíán Zsolt – Töröcsik Beáta** (1995, Házi TDK konferencia, III. díj)
- ❖ **Kiss Katalin – Bartek Balázs** (1996, 7. Europaischen Studentkonferenz, Berlin, dicséret)
- ❖ **Kiss Katalin – Bartek Balázs** (1997, Házi TDK konferencia, dicséret)
- ❖ **Kiss Katalin – Bartek Balázs** (1997, 5th International Student's Scientific Conference, Gdansk, III. díj)
- ❖ **Kiss Katalin – Bartek Balázs** (1997, 9th European Student's Conference of The Charité, Berlin)
- ❖ **Fábíán Zsolt** (1997, Házi TDK konferencia, I. díj)
- ❖ **Fábíán Zsolt** (1997, Országos TDK konferencia, III. díj)
- ❖ **Csernus Katalin – Till Ágnes** (1998, Házi TDK konferencia, II. díj)
- ❖ **Bátor Judit** (1999, Házi TDK konferencia, II. díj)
- ❖ **Csernus Katalin – Till Ágnes** (1999, Házi TDK konferencia, II. díj)

❖ Till Ágnes – Csernus Katalin	(1999, Házi TDK konferencia, I. díj; 1999, Országos TDK konferencia, MBE különdíja)
❖ Szóke Katalin	(2000, Házi TDK konferencia, dicséret)
❖ Fereidon Shafiei	(2000, Házi TDK konferencia, I. díj)
❖ Gaál Emília	(2001, Házi TDK konferencia)
❖ Szóke Katalin	(2001, Házi TDK konferencia)
❖ Berta Gergely	(2002, Házi TDK konferencia, dicséret)
❖ Berta Gergely	(2003, Házi TDK konferencia, II. díj)
❖ Kiss Judit	(2003, Házi TDK konferencia, II. díj)
❖ Vecsernyés Mónika	(2003, Egészségügyi Főiskolai Kar TDK konferenciája, II. díj)

3. Államvizsga dolgozatok

❖ Bajor Judit	(1993)
❖ Horváth Gábor	(1995)
❖ Törőcsik Beáta	(1996)
❖ Michael Atanassacopoulos	(1998)
❖ Bartek Balázs	(1998)
❖ Fábián Zsolt	(1998)
❖ Kiss Katalin	(1998)
❖ Thomas Alexander Skog	(1999)
❖ Salamon Szilvia	(2000)
❖ Cecilie Furre	(2000, University of Linköping)
❖ Alexander Seldal	(2001, University of Linköping)
❖ Bátor Judit	(2001)
❖ Szóke Katalin	(2001)
❖ Csernus Katalin	(2001)
❖ Till Ágnes	(2001)
❖ Berta Gergely	(2003)

Doktorandusz képzés

Az intézet PhD alprogramját (Ras proto-onkogének szerepe a jelátvitelben, majd *Intracelluláris jelátviteli folyamatok vizsgálata* címen) 1993-ban akkreditálták, 2001 óta a Multidiszciplináris orvostudományok Doktori Iskola programjaként működik. A doktorandusz képzés keretében több kurzust hirdetünk meg (4. keretes összeállítás).

4. PhD-kurzusok

- ❖ Molekuláris biológiai módszerek (Szeberényi J.)
- ❖ A sejtmag funkcionális morfológiája (Komáromy L.)
- ❖ Jelátviteli folyamatok (Szeberényi J.)
- ❖ Molekuláris sejtbiológiai kísérletek (Szeberényi J., Pap M., Sétáló Gy.)

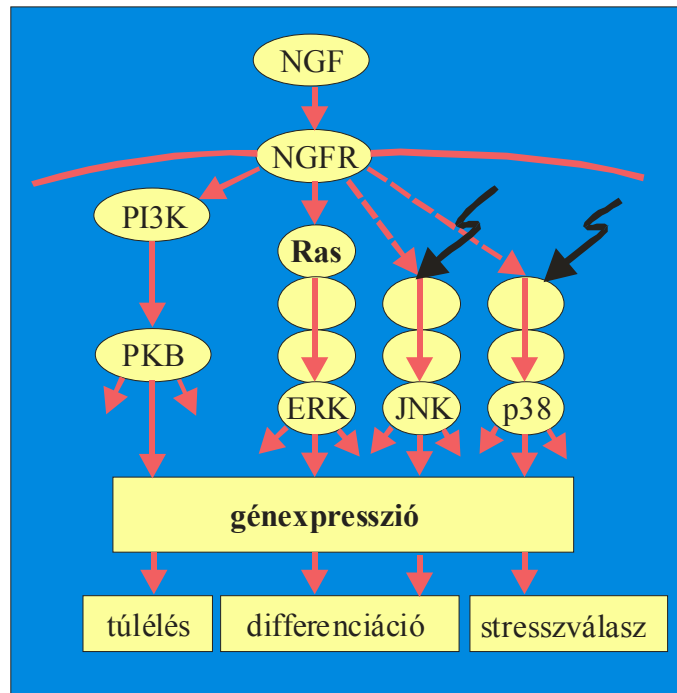
A PhD-program alapját az intézet fő kutatási témája, a PC12 phaeochromocytoma sejtekben lezajló szignalizációs folyamatok adják (ld. Később). A program beindulása óta 7 fiatal kolléga védte meg disszertációját (5. keretes összeállítás).

5. PhD disszertáció védések

❖ Erhardt Péter	(1996)
❖ Sebők Ágnes	(2000)
❖ Törőcsik Beáta	(2000)
❖ Pap Marianna	(2001)
❖ ifj. Sétáló György	(2002)
❖ Boglári Gábor	(2002)
❖ Lakatos Anita	(2003)

Jelátviteli kutatások

1987 és 1992 között – rövid megszakítással – csaknem négy évet dolgoztam *Geoffrey M. Cooper* laboratóriumában (Dana Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston). Cooper professzor az onkogén kutatások egyik úttörője volt az 1970-es évek végén, érdeklődése később az intracelluláris jelátvitel felé fordult. Kutatási témám a bostoni időszakban a proto-onkogén Ras fehérjék szignalizációs szerepének vizsgálata volt a mitogén (25, 26) és differenciációs folyamatokban. A neuronális differenciáció modell-rendszereként világszerte a PC12 patkány phaeochromocytoma sejtvonalat használják (27). Idegi növekedési faktor (NGF) hatására ezek az eredetileg kromaffin jellegű sejtek neuritokat növesztve szimpatikus neuronokká differenciálódnak. Az aktivált NGF-receptorról több jelátviteli út indul el a sejt belsejébe (1. ábra): a differenciációs választ elsősorban az extracelluláris szignál regulált kinázok által közvetített út (*ERK-út*) biztosítja; a foszfatidilinozitol-3-kináz (*PI3K-út*) a sejtek túlélését, a c-Jun N-terminális kináz (*JNK-út*) és a p38 kináz kaskád (*p38-út*) pedig a stressz-választ mediálja. Munkám során olyan PC12 sejtvonalat hoztam létre, melyek egy domináns gátló Ras fehérjét expresszáltak, így alkalmasak voltak arra, hogy bennük a sejtek biológiai és génexpressziós válaszainak Ras-függését tanulmányozhassuk (28-30). Hazatérésem után ezen sejtvonalak további jellemzése, illetve a PC12 jelátvitel különböző aspektusainak tanulmányozása vált az Orvosi Biológiai Intézet fő kutatási területévé. Kapcsolatunk Cooper doktorral megmaradt, munkatársam, Pap Marianna bostoni tanulmányútja tovább erősítette azt.



NGF jelátvitel

Az ERK-út szabályozása

Az ERK-út, melynek működése nélkülözhetetlen az NGF differenciációs hatásához, szabályozása Ras-függő. A Ras működés kismértékű gátlása elég ahhoz, hogy az ERK enzimek NGF által kiváltott foszforilációja és aktivációja átmenetivé váljon és elmaradjon nukleáris transzlokációjuk. Ilyen körülmények között a neuritnövekedés is elmarad (31). A domináns gátló Ras fehérjét expresszáló PC12 sejtek azonban differenciációt mutatnak NGF és dbcAMP (cAMP analóg), illetve NGF és ionomicin (Ca^{++} ionofor) hatására (30). Meglepő módon, a kombinációs kezelések azonban sem ERK aktivációt, sem ERK transzlokációt nem okoznak, bizonyos fokú neuritnövekedést tehát az ERK-út megkerülésével is el lehet érni (32). A fentiekből az is következik, hogy a cAMP, illetve a Ca^{++} hatása az ERK-től disztálisan vagy párhuzamos jelátviteli úton keresztül érvényesül. Ezt támasztja alá az a megfigyelésünk, hogy az ionomicin Ras-tól függetlenül aktiválja az ERK-től disztálisan működő RSK enzimet és idézi elő a CREB transzkripciós faktor foszforilációját (32). A PC12 sejtek tehát alkalmasak az NGF és különböző másodlagos messengerek jelpályái által alkotott bonyolult szignalizációs hálózatok tanulmányozására.

Az NGF génexpressziós hatásai

Az NGF differenciáció indukáló hatásait génexpressziós változások kísérik: a korai válasz gének által kódolt transzkripciós faktorok szabályozhatják azokat a késői válasz géneket, melyek a biológiai hatást kialakíthatják (27). A Ras kismértékű gátlása azonban blokkolja az NGF hatását a késői génekre és a neuritnövekedésre, anélkül, hogy a korai gének indukciója (28), vagy egyes, a differenciációs válasz szempontjából kulcsszereplőnek vélt transzkripciós faktorok (c-Fos, Zif268) foszforilációja, illetve DNS-kötő képessége változna (34). NGF-el és másodlagos messengerekkel végzett kombinációs kezeléseink génexpressziós hatásai is azt mutatják, hogy a korai és késői gének indukciója, illetve az NGF neuritogén hatása között nem egyszerű lineáris összefüggés érvényesül, a szabályozás sokkal bonyolultabb (35).

Citosztatikus és stresszjelátvitel

Az NGF-indukált neuronális differenciációt a sejtciklus leállása előzi meg. A citosztatikus hatás mechanizmusa kevésbé tisztázott. Vizsgálataink szerint az NGF antimitogén hatását is a Ras fehérjék közvetítik PC12 sejtekben (36). Az NGF a stresszhatásokat közvetítő jelpályákat, a JNK-utat és a p38-utat is serkenti. Ezen utak szabályozásának és szerepének vizsgálatára az anizomicint, egy fehérjeszintézist gátló szert használtunk (37, 38). Kis koncentrációban ez az anyag aktiválja a fő mitogén-aktivált proteinkináz utakat (ERK, JNK, p38) és az ezek által szabályozott géneket (pl.: *c-fos*, *c-jun*, *zif268*). A hatást reaktív oxigén szabadgyökök közvetítik. A stressz utak aktiválása gátolja a neuritnövekedést, de toxikus hatást, apoptózist nem okoz. Nagy koncentrációban az anizomicin pro-apoptotikus, ez azonban nem a stressz utakra kifejtett serkentő hatásával, hanem a fehérjeszintézis gátlásával hozható összefüggésbe.

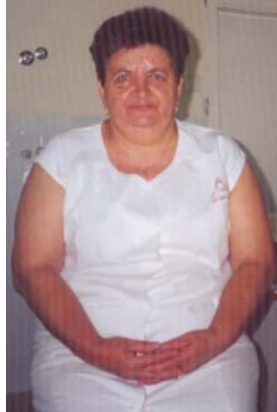
Rho fehérjék szerepe a neuronális differenciációban

A Rho fehérjecsalád tagjai, hasonlóan a Ras proteinekhez, a monomer G fehérjék közé tartoznak, a citoskeleton szabályozásában, jelátviteli folyamatokban játszanak szerepet. A RhoA funkcióját PC12 sejtek neuronális differenciációjában *Tigyi Gábor*, a University of Tennessee (Memphis) professzorának laboratóriumával kollaborációban vizsgáltuk (39). Konstitutívan aktív, illetve domináns gátló RhoA mutánsok alkalmazásával megállapítottuk, hogy míg a RhoA fehérje gátló faktorként szabályozza a neuritiniációt, a már kialakult nyúlványok további elongációját serkenteni képes.

Túlélési és apoptotikus jelátvitel PC12 sejtekben

Az elmúlt években intézetünk tudományos érdeklődése – a neuronális differenciáció vizsgálata mellett – az anti- és pro-apoptotikus mechanizmusok felé fordult, mind az alap-, mind pedig az alkalmazott kutatás szintjén. Az utóbbi kategóriába tartozik kapcsolatunk *Csatáry Lászlóval* (United Cancer Research Institution, Florida). A kollaboráció célja egy attenuált Newcastle-betegség vírus törzs onkolitikus hatásának vizsgálata (40-42). Az MTH-68/H PC12 sejtekben dózisfüggő citotoxicitást mutat, az apoptózisra jellemző internukleosomális DNS fragmentációt okoz. Ehhez a hatáshoz nem szükséges funkcióképes Ras fehérje és az apoptózis egyes típusaiban kulcsszerepet játszó p53 tumor szuppresszor fehérje működése sem. A vírus apoptotikus hatása nem védhető ki növekedési faktorokkal, a cAMP-út egyidejű serkentése azonban részleges védelmet nyújt. A túlélésben, illetve apoptózisban szerepet játszó jelátviteli fehérjék viselkedésének vizsgálata reményt nyújt a vírus onkolitikus hatásmechanizmusának tisztázására, fő támadáspontjának azonosítására.

A 80 éves Orvosi Biológiai Intézet munkatársai



Gölöntsérné T. Ilona



Kieferné R. N. Eszter



Szennyai Imréné



Bús Attiláné



Panta Zoltán



Dr. Kiss Katalin



Czine Zoltáné



Molnár Gáborné



Dr. Szeberényi József



Ifj. Dr. Sétáló György



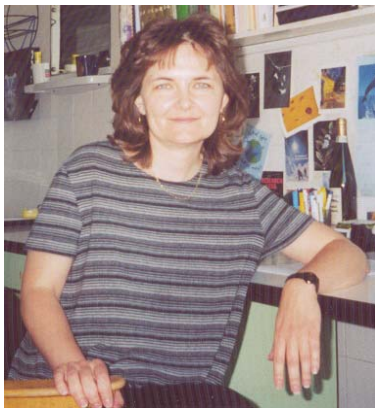
Deák Árpádné



Molitor László



Schäffer Rudolfné



Dr. Pap Marianna



Pákolitz Istvánné



Dr. Fábán Zsolt



Vecsernyés Mónika



Kiss Györgyné



Dr. Komáromy László



Dr. Bátor Judit



Drabik Krisztina



Herner Ferencné

Az Orvosi Biológiai Intézet munkatársai

Az Orvosi Biológiai Intézet (újja)születése, 1970 óta a kis intézetek közé tartozott, 20-25 munkatárssal, 7-8 oktatói státusszal. Jelentős oktatási terhet viseltünk és viselünk, diákkörösöket, doktoranduszokat képezünk, külföldi tanulmányutakon tartózkodókat helyettesítünk. Elég sokat dolgoztunk, dolgozunk. Bizonyára ez is hozzájárul ahhoz, hogy az elmúlt 11 évben meglehetősen nagy volt az oktatói fluktuáció: csaknem háromszor annyian fordultak meg az intézetben, mint ahány oktatói státusszal rendelkezünk (6. keretes összeállítás). Tigyi András már nincs közöttünk, mások külföldre távoztak, vagy PhD-fokozatuk megszerzése után a klinikumban, más kutatóhelyen folytatják munkájukat. Akik maradtak, dolgoznak tovább, hogy meg tudjunk felelni az elődeink által elért színvonalnak és a jövő által támasztott követelményeknek is. Az intézet minden munkatársának, oktatóknak, közép-kádereknek és technikai munkatársaknak, maradóknak és eltávoztaknak, szeretném kifejezni köszönetemet és hálámat mindazért, amit ezért a közösségért tettek.

6. Az Orvosi Biológiai Intézet oktatói (1992-)

†Tigyi András	(1949–2001)
Bátor Judit	(2001–)
Boglári Gábor	(1992–2000)
Erhardt Péter	(1982–1994)
Fábián Zsolt	(1998–)
Fekete Andrea	(1998–2001)
Horváth Gábor	(1995–2001)
Kiss Katalin	(1998–)
Komáromy László	(1961–)
Lakatos Anita	(1995–)
Najbauer József	(1996–1998)
Nusser Nóra	(1992–2001)
Ottó Iringó	(1994–1997)
Panta Zoltán	(2002–)
Pap Marianna	(1992–)
Reisz Zsuzsa	(1982–1994)
Sebők Ágnes	(1990–2001)
ifj. Sétáló György	(1992–)
Szeberényi József	(1975–)
Szigeti Kinga	(1994–1997)
Szóke Katalin	(2001–)
Törőcsik Beáta	(1996–2002)

Irodalom

1. **Tigyi A.** (1964): Az írásbeli vizsgáztatás tapasztalatai. *Felsőoktatási Szemle* 13, 609-616.
2. **Tigyi A.** (1977): Vizsgáztatás az alkalmazási készség mérésével. *Felsőoktatási Szemle* 26, 154-160.
3. **Szeberényi J., Tigyi A.** (1987): The use of application test, a novel type of problem-solving exercise as a tool of teaching and assessment of competence in medical biology. *Medical Teacher*, 9, 73-82.
4. **Kóczánné Bukovinszky A., Tigyi A.** (1983): A visszajelentés szerepe az oktatói magatartás alakításában. *Felsőoktatási Szemle* 32, 415-419.
5. **Tigyi A.** (1990): Orvosi biológia (egyetemi jegyzet), Pécs, 264 o.
6. **Szeberényi J.** (1998): Bevezetés a molekuláris sejtbiológiába (egyetemi jegyzet), Pécs. 283 o.
7. **Szeberényi J.** (1999): Molekuláris sejtbiológia (egyetemi tankönyv). *Dialóg Campus Kiadó, Budapest-Pécs*, 517 o.
8. **Szeberényi J., Komáromy L.** (2002): Molecular Cell Biology Syllabus. *Pécs*, pp. 178.
9. **Komáromy L., Szeberényi J.** (szerk., 2002): Molekuláris sejtbiológiai gyakorlatok (egyetemi jegyzet). *Pécs*, 103 o.
10. **Szeberényi J., Komáromy L.** (eds., 2002): Molecular Cell Biology Laboratory Manual. *Pécs*, pp. 128.
11. **Boglári G., Szeberényi J.** (szerk., 1997): Alkalmazástereszt-feladatok molekuláris sejtbiológiából. (egyetemi segédjegyzet). *Pécs*, 173 o.
12. **Szeberényi J.** (1999): Experiments in Molecular Cell Biology. *Dialóg Campus Kiadó, Budapest-Pécs*, pp 259.
13. **Szeberényi J., Boglári G., Komáromy L., Nusser N., Pap M., Sebők Á., Sétáló Gy., Tigyi A.** (1996): Problem-oriented teaching of molecular cell biology. *Medical Education*, 30, 232-234.
14. **Szeberényi J., Boglári G., Komáromy L., Nusser N., Pap M., Sebők Á., Sétáló Gy., Tigyi A.** (1996): The way we teach molecular cell biology at the University Medical School of Pécs, Hungary. *Medical Teacher*, 18, 213-218.
15. **Szeberényi J.** (1996): Problem-solving in molecular biology. *Biochem. Educ.*, 24, 222.
16. **Szeberényi J.** (1998): Development of problem-solving teaching and assessment exercises in a molecular cell biology course. *Basic Science Education*, 8, 3-6.

17. **Szeberényi J.** (2002): Problem-solving tests for problem-based learning: Introduction. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 30, 61.
18. **Szeberényi J.** (2002): Problem-solving tests for problem-based learning: The mechanism of action of anthrax toxin lethal factor. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 30, 62-63.
19. **Szeberényi J.** (2002): Problem-solving tests for problem-based learning: The molecular pathomechanism of Tay-Sachs disease. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 30, 197-199.
20. **Szeberényi J.** (2002): Problem-solving tests for problem-based learning: Restriction mapping. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 30, 258-259.
21. **Szeberényi J.** (2002): Problem-solving tests for problem-based learning: Insulin signaling. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 30, 322-323.
22. **Szeberényi J.** (2002): Problem-solving tests for problem-based learning: Lactose operon mutants. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 30, 420-421.
23. **Szeberényi J.** (2003): Problem-solving tests for problem-based learning: The role of a chaperone in protein synthesis. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 31, 137-138.
24. **Szeberényi J.** (2003): Problem-solving tests for problem-based learning: Glucose transport in liposomes. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 31, 195-196.
25. **Cai, H., Szeberényi J., Cooper, G.M.** (1990): Effect of a dominant inhibitory Ha-ras mutation on mitogenic signal transduction in NIH 3T3 cells. *Mol. Cell. Biol.* 10: 5314-5323.
26. **Cai, H., Erhardt, P., Szeberényi, J., Diaz-Meco, M.T., Johansen, T., Moscat, J., Cooper, G.M.** (1992): Hydrolysis of phosphatidylcholine is stimulated by Ras proteins during mitogenic signal transduction. *Mol. Cell. Biol.*, 12, 5329-5335.
27. **Szeberényi, J., Erhardt, P.** (1994): Cellular Components of Nerve Growth Factor Signaling. *Biochim. Biophys. Acta (Mol. Biol. Res.)* 1222, 187-202.
28. **Szeberényi J., Cai, H., Cooper, G.M.** (1990): Effect of a dominant inhibitory Ha-ras mutation on neuronal differentiation of PC12 cells. *Mol. Cell. Biol.* 10, 5324-5332.
29. **Troppmair, J., Bruder, J.T., App, H., Cai, H., Liptak, L., Szeberényi, J., Cooper, G.M., Rapp, U.R.** (1992): Ras controls coupling of growth factor receptors and protein kinase C in the membrane to Raf-1 and B-Raf protein serine kinases in the cytosol. *Oncogene* 7, 1867-1873.
30. **Szeberényi, J., Erhardt, P., Cai, H., Cooper, G.M.** (1992): Role of Ras in signal transduction from the NGF receptor: Relationship to protein kinase C, calcium, and cyclic AMP. *Oncogene* 7, 2105-2113.
31. **Boglári G., Erhardt P., Cooper G.M., Szeberényi J.** (1998): Intact Ras function is required for sustained activation and nuclear translocation of extracellular signal-

regulated kinases in nerve growth factor-stimulated PC12 cells. *Eur. J. of Cell Biol.* 75, 54-58.

32. **Boglári G., Szeberényi J.** (2001): Nerve growth factor in combination with second messenger analogues causes neuronal differentiation of PC12 cells expressing a dominant inhibitory Ras protein without inducing activation of extracellular signal-regulated kinases. *Eur. J. Neuroscience* 14, 1445-1454.
33. **Boglári G., Szeberényi J.** (2002): Nuclear translocation of p90^{Rsk} and phosphorylation of CREB is induced by ionomycin in a Ras-independent manner in PC12 cells. *Acta Biol. Hung.* 53, 325-334.
34. **Szeberényi J.** (1998): Normal stimulation of the synthesis, phosphorylation and DNA binding activity of c-Fos and Zif268 proteins by nerve growth factor is not sufficient to mediate neuronal differentiation of PC12 cells. *Mol. Cell. Biochem.* 189, 71-77.
35. **Pap M., Szeberényi J.** (1998): Differential Ras-dependence of gene induction by nerve growth factor and second messenger analogs in PC12 cells. *Neurochem. Res.* 23, 971-977.
36. **Kiss K., Bartek B., Nusser N., Szeberényi J.** (1998): Ras-dependence of nerve growth factor-induced inhibition of proliferation of PC12 cells. *Acta Biol. Hung.* 49, 97-102.
37. **Törőcsik B., Szeberényi J.** (2000): Anisomycin uses multiple mechanisms to stimulate mitogen-activated protein kinases and gene expression and to inhibit neuronal differentiation in PC12 pheochromocytoma cells. *Eur. J. Neuroscience* 12, 527-532.
38. **Törőcsik B., Szeberényi J.** (2000): Anisomycin affects both pro- and antiapoptotic mechanisms in PC12 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 278, 550-556.
39. **Sebők Á., Nusser N., Debreceni B., Guo Z., Santos M.F., Szeberényi J., Tigyi G.** (1999): Different roles of RhoA in neurite initiation and elongation during PC12 cell differentiation. *J. Neurochem.* 73, 949-960.
40. **Csatary L.K., Moss R.W., Beuth J., Törőcsik B., Szeberényi J., Bakács T.** (1999): Beneficial treatment of patients with advanced cancer using a Newcastle disease virus vaccine (MTH-68/H). *Anticancer Res.* 19, 635-638.
41. **Fábián Zs., Törőcsik B., Kiss K., Csatary L.K., Bodey B., Tigyi J., Csatary C., Szeberényi J.** (2001): Induction of apoptosis by a Newcastle Disease Virus Vaccine (MTH-68/H) in PC12 rat pheochromocytoma cells. *Anticancer Res.* 21, 125-136.
42. **Szeberényi J., Fábián Zs., Törőcsik B., Kiss K., Csatary L.K.** (2003): Newcastle disease virus induced apoptosis in PC12 pheochromocytoma cells. *Amer. J. Therap.* 10, 282-288.

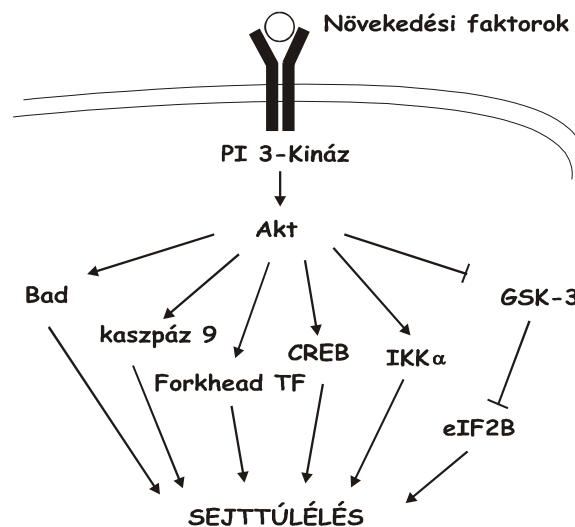
Túlélési és apoptotikus jelátvitel emlős sejtekben

Pap Marianna

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Biológiai Intézet

A PI 3-K/Akt sejt túlélést közvetítő jelátviteli út

Az emlős sejtek többségének túlélése olyan extracelluláris szignáloktól függ, amelyek gátolják az apoptózist. Legújabb kutatási adatok alapján a fő jelátviteli út, amelyen keresztül túlélési faktorok megakadályozzák az apoptózist, a foszfatidil inozitol 3-kináz (PI 3-K) és a szerin/treonin fehérjekináz Akt/protein kináz B (PKB) aktivációját idézi elő. Növekedési faktorok hatására a tirozinkináz transzmembrán receptor tirozin aminosavakon autofoszforilálódik és ez a PI 3-K receptorhoz kötődését idézi elő. A PI 3-K ezután membránhoz kötött foszfatidilinozitolokat foszforilál, a keletkező foszfatidilinozitol 3,4 biszfoszfát és a foszfatidilinozitol 3,4,5 triszfoszfát másodlagos messengerként hatva különböző fehérjéket aktivál, köztük az Akt-t. Az aktív, foszforilált Akt különböző szubsztrátok foszforilációján keresztül közvetíti a sejt túlélés jelátvitelét. Ezek közé tartozik a Bad, a Bcl-2 család proapoptotikus tagja, a kaszpáz-9, az apoptotikus kaszpáz kaszkád tagja, transzkripciós faktorok (Forkhead, CREB), IKK α , és a glikogén szintáz kináz-3 (GSK-3).



1. ábra. A PI 3-K/Akt sejt túlélést közvetítő jelátviteli út szubsztrátjai.

Az Akt elsőként azonosított fiziológiás szubsztrátja a GSK-3 volt, amelyet inzulin kezelésre a glikogén szintézist szabályozó enzimeként fedeztek fel először. A GSK-3 minden sejtben expresszálódó szerin/treonin fehérjekináz, amelynek emlős sejtekben két izoformája van: az 51 kDa GSK-3 β és a 47 kDa GSK-3 α . Növekedési faktorok hatására a GSK-3 foszforilálódik, amely aktivitásának gátlásához vezet.

Mivel patkány pheochromocytoma (PC12) sejtek NGF kezelésekor a GSK-3 aktivitás csökken a PI 3-K út közvetítésével, megvizsgáltuk, hogy az aktív GSK-3 overexpressziója okoz-e apoptózist. Vizsgálatainkhoz PC12 és Rat-1 (patkány fibroblaszt) sejteket használtunk,

amelyekben a PI 3-K központi szerepet játszik a sejttúlélés jelátvitelében. A sejteket tranziensen transzfektáltuk egy zöld fluoreszcens fehérjét expresszáló plazmival (GFP) és kotranszfektáltunk vad-típusú GSK-3 vagy domináns negatív R85 GSK-3 β cDNS-t expresszáló plazmidokkal. A transzfektált sejteket zöld fluoreszcenciájuk alapján fluoreszcens mikroszkópban azonosítottuk, az apoptotikus sejteket pedig a sejtmagok jellegzetes morfológiája alapján számoltuk meg Hoechst festést követően. A kontroll sejteknek (amelyeket vagy csak az üres vektor plazmival vagy a domináns negatív GSK-3 β plazmival transzfektáltunk) kb. 20%-a volt apoptotikus mind a PC12, mind a Rat-1 sejtekben. Ezzel ellentétben, mindkét sejtvonal esetén a sejtek 60-70%-a apoptotizált a vad-típusú GSK-3 β transzfekcióját követően. Kontrollként vad-típusú és domináns negatív p53 fehérjét expresszáló plazmidot transzfektáltunk, mivel az irodalomból ismert az, hogy a vad-típusú p53 apoptózist indukál, míg a domináns negatív p53 nem. Így kísérleteinkből megállapítható, hogy az aktív GSK-3 β overexpressziója elegendő az apoptózis indukciójához.

Következő kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy a GSK-3 β által előidézett apoptózis gátolható-e az apoptózis ismert gátló szereivel. Domináns negatív p53 kotranszfekciójával kivédhető a GSK-3 β által előidézett apoptózis, amely alátámasztja a p53 szerepét a PI 3-K gátlás következtében indukálódó apoptózisban mind PC12, mind Rat-1 sejtekben. A GSK-3 által indukált apoptózis ugyancsak blokkolható a CPP32 kaspáz peptid-inhibitorával. A CPP32 (kaspáz 3) egy effektor kaspáz, amely különböző apoptotikus stimulusokra aktiválódik, köztük a PI 3-K gátlás hatására. A GSK-3 indukálta apoptózis ugyancsak gátolható a Bcl-2 vagy Bcl-x_L-t expresszáló plazmidok kotranszfekciójával, amelyekről ismert, hogy különböző hatásra, pl. PI 3-K gátlásra bekövetkező apoptózist kivédik.

A következőkben azt határoztuk meg, hogy a GSK-3 aktivitás szükséges-e az apoptózis kialakulásához, amelyet a PI 3-K gátlása okoz. PC12 és Rat-1 sejteket domináns negatív mutáns GSK-3 plazmival transzfektáltunk, majd specifikus PI 3-K gátlóval, az LY294002-vel kezeltünk. Az LY294002 kezelés a kontroll sejtek 60%-ában apoptózist okozott. Az R85 GSK-3 mutáns szignifikánsan csökkentette az LY294002 által okozott apoptózis mértékét. Hasonló eredményt kaptunk, amikor a sejteket domináns negatív PI 3-K expresszáló plazmival transzfektáltuk. A domináns negatív PI 3-K a transzfektált sejtek 60%-ában indukált apoptózist és ez szignifikánsan gátolható volt a domináns negatív mutáns GSK-3 kotranszfekciójával. Ez a megfigyelés azt mutatja, hogy a GSK-3 aktivitása szükséges a PI 3-K gátlás következtében kialakuló apoptózishoz.

A GSK-3-nak nagyon sok szubsztrátja ismert, köztük metabolikus enzimek (glikogén szintáz, piruvát dehidrogenáz, ATP-citrát liáz), transzkripciós faktorok (c-Myc, L-Myc, c-Jun, JunB, JunD, Myb, CREB), eukariota translációs iniciációs faktor 2B (eIF2B), a citoskeleton fehérje tau, β -katenin és a sejtciklust szabályozó ciklin D1.

Az eIF2B fehérje 5 alegységből áll (α 32 kDa, β 40 kDa, γ 55 kDa, δ 65 kDa, ϵ 82 kDa). Fiziológias feladata, hogy a transláció iniciációja során az eIF2 iniciációs faktor guanin nukleotid kicserélő faktoraként működik. Az eIF2 az iniciáció kezdetén GTP-kötött állapotban alkalmas az első Met-tRNS-el, egyéb iniciációs faktorokkal és a 40S riboszóma alegységgel létrehozni az iniciációs komplexet. Az iniciáció során a GTP hidrolizálódik és az eIF2 GDP kötött formában válik le a komplexről. Minden iniciációs folyamat végén az aktív GTP kötött eIF2-nek regenerálnia kell az eIF2.GDP kötött formából, amelyhez az eIF2B nukleotid kicserélő aktivitása szükséges. Mivel az eIF2 minden iniciációs folyamathoz szükséges, az eIF2B aktivitásának szabályozása az egész transláció iniciációját befolyásolja.

Irodalmi adatok alapján ismert, hogy inzulin hatására az eIF2B aktiválódik, egy PI 3-K függő úton keresztül. Az eIF2B ϵ alegységét több enzim foszforilálja; a kazein kináz-I. és II. foszforilációja aktiváló hatású, míg a GSK-3 foszforiláció hatására az eIF2B inaktiválódik. Az eIF2B ϵ alegységének GSK-3 általi foszforilációja a fehérje inaktivációját és ezzel együtt a fehérjeszintézis gátlását okozza. Az inaktiváló foszforiláció sejt túlélésben játszott szerepének tisztázására a GSK-3 által foszforilált 535-ös pozícióban levő szerint alaninra cseréltük ki és a továbbiakban ezzel a mutáns eIF2B fehérjét (S535A eIF2B) expresszáló plazmiddal végeztük el a kísérleteket. PC12 és Rat-1 sejteket GSK-3 expressziós plazmiddal, vad-típusú és mutáns eIF2B-t (S535A eIF2B) expresszáló plazmiddal transzfektáltunk. A transzfektált sejtek azonosítása miatt a sejteket zöld fluoreszcens fehérjét expresszáló plazmiddal kotranszfektáltuk. A transzfektált sejtek kb. 60%-a apoptotizált a GSK-3 ill. a vad-típusú eIF2B overexpressziója esetén. Azonban a nem foszforilálható mutáns S535A eIF2B expressziója kivédte a GSK-3 indukálta apoptózist mindkét sejt vonalban. Ez a megfigyelés arra utal, hogy az eIF2B foszforilációja a GSK-3 által indukált apoptózisban szerepet játszik.

Hogy tovább tanulmányozzuk az eIF2B szerepét a sejt túlélésben, vizsgáltuk, hogy a mutáns S535A eIF2B kivédi-e a PI 3-K gátlása ill. a növekedési faktorok megvonására bekövetkező apoptózist. Az S535A eIF2B transzfekciója hatékonyan megakadályozta az apoptózist PC12 és Rat-1 sejtekben, amelyet a PI 3-K gátló LY294002 kezeléssel idéztünk elő. Ugyanezt az eredményt kaptuk, amikor a PI 3-K gátlását domináns negatív mutáns PI 3-K transzfekciójával végeztük. Mivel mind a PC12, mind a Rat-1 sejtek növekedési faktor függő sejtek, a növekedési faktorokat tartalmazó szérum megvonásakor apoptotizálnak. Az S535A eIF2B overexpressziója hatékonyan gátolja a szérum megvonás indukálta apoptózist is. Kísérleteinkből levonható következtetés, hogy az eIF2B fehérje szabályozása a növekedési faktor receptorokon keresztül, PI 3-K-függő úton történik.

A PI 3-K gátlása a transláció csökkenését eredményezi. A következőkben arra voltunk kíváncsiak, hogy a mutáns eIF2B-t overexpresszáló sejtekben a transláció gátlása kivédhető-e. PC12 sejteket zöld fluoreszcens fehérjét expresszáló plazmiddal és kontroll, vad-típusú ill. mutáns eIF2B-t expresszáló plazmidokkal kotranszfektáltunk. A transzfektált sejtek közül a legintenzívebben zölden fluoreszkáló sejteket áramlási citométerrel válogattuk ki, majd a PI 3-K gátló LY294002 kezelést követően translációs aktivitásukat meghatároztuk. A PI 3-K gátlása a kontroll ill. a vad-típusú eIF2B-vel transzfektált sejtekben a transláció 70-75%-os csökkenését idézte elő. A mutáns S535A eIF2B overexpressziója szignifikánsan blokkolta a PI 3-K gátlás hatását, ezekben a sejtekben a transláció aktivitása kb. 60%-os volt. Tehát, PC12 sejtekben a transláció szabályozása a PI 3-K/Akt/GSK-3 út közvetítésével történik.

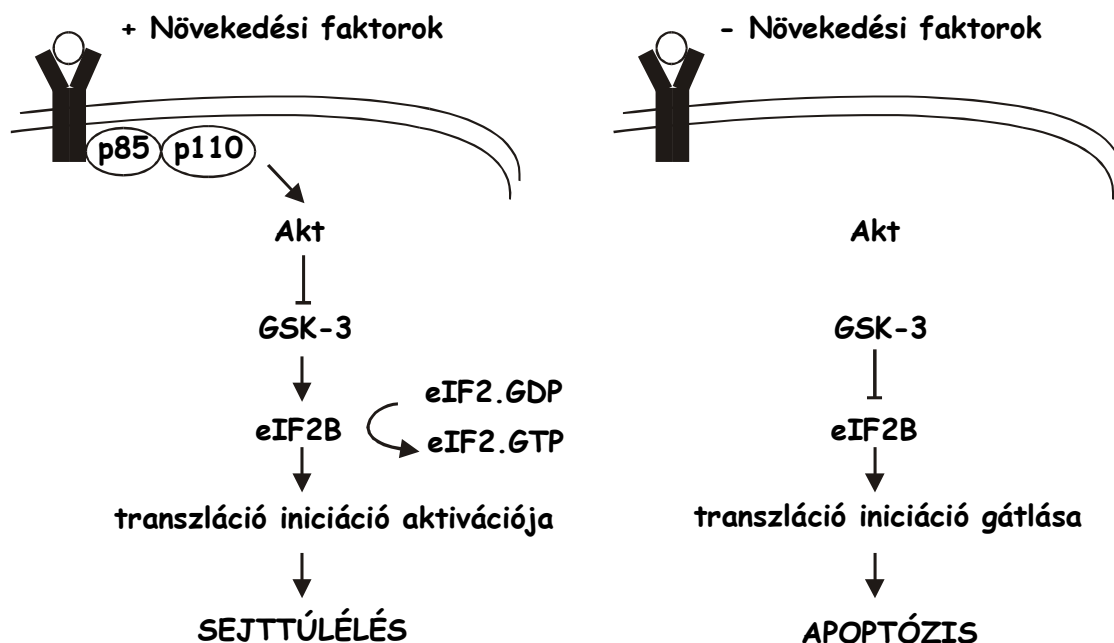
A mutáns S535A eIF2B képes a fehérjeszintézis fenntartására és az apoptózis kivédésére PI 3-K gátlást követően, ami azt mutatja, hogy a fehérjeszintézis szabályozásának fontos szerepe van a sejt túlélésben. A fehérjeszintézis további vizsgálatához a fehérjeszintézis ismert gátlószerét, a cikloheximidet használtuk és azt vizsgáltuk, hogy a transláció gátlása okozhat-e apoptózist. A cikloheximid a fehérjeszintézis gátlása mellett PC12 és Rat-1 sejtek apoptózist indukálta dózis-függő módon. A mutáns S535A eIF2B overexpressziója nem véd a cikloheximid indukálta apoptózistól, ami azt mutatja, hogy a mutáns eIF2B specifikusan csak a PI 3-K gátlás következtében indukálódó apoptózist védi ki.

Apoptotikus stimulusok hatására citokróm *c* áramlik ki a mitokondriumokból, amely a citoplazmában kaszpáz kaszkád elindításával apoptózist okoz. Kísérleteinkben azt vizsgáltuk,

hogy vajon a cikloheximiddel, illetve a PI 3-K gátlással kiváltott transzláció gátlás okoz-e mitokondriális diszfunkciót és citokróm *c* kiáramlást. PC12 sejtek PI 3-K gátló LY294002-vel ill. cikloheximiddel való kezelése után anti-citokróm *c* antitesttel immuncitokémiai festést végeztünk. Azt tapasztaltuk, hogy a PI 3-K gátlása és a cikloheximiddel történt transzláció gátlás egyforma mértékű citokróm *c* kiáramlást indukál, ami azt mutatja, hogy mind a PI 3-K út gátlásával, mind a cikloheximiddel előidézett transzláció gátlása a mitokondrium "előtt" hatva elősegítik a citokróm *c* kiáramlást.

A PI 3-K/Akt jelátviteli út aktiválása gátolja a mitokondriális citokróm *c* kiáramlást. Mivel a mutáns S535-eIF2B fehérjét expresszáló sejtekben a transzláció PI 3-K gátlás esetén sem csökken jelentős mértékben, ezért feltételeztük, hogy ezekben a sejtekben a citokróm *c* kiáramlás is kisebb mértékű, mint a kontroll sejtekben. PC12 sejtek kontroll, vad-típusú és mutáns eIF2B-t expresszáló plazmidokkal való transzfekciója után LY294002 illetve CHX kezelésben részesültek, majd anti-citokróm *c* antitesttel immuncitokémiai festést végeztünk. A mutáns S535A eIF2B overexpressziója hatékonyan gátolja a PI 3-K gátlás következtében kialakuló citokróm *c* kiáramlást, de nincs hatással a cikloheximid indukálta citokróm *c* kiáramlásra. Kísérleteinkből levonható következtetés, hogy az eIF2B foszforilációja és az ennek következtében kialakuló transzláció gátlása okozza a citokróm *c* kiáramlását a mitokondriumból és apoptózist indukál.

Kísérleteink alapján a PI 3-K/Akt/GSK-3/eIF2B sejtülélést közvetítő jelátviteli út szabályozása a következőképpen foglalható össze (2. ábra). Növekedési faktorok jelenlétében a PI 3-K/Akt út aktiválódik, az aktív Akt foszforilálja a GSK-3-t, amelynek következtében a fehérje inaktiválódik. Az inaktív GSK-3 nem foszforilálja szubsztrátjait, így az eIF2B fehérje működése megtartott, a transzláció zavartalan. Növekedési faktorok hiányában, ill. a PI 3-K gátlása esetén a GSK-3 aktív, így foszforilálja és inaktíválja az eIF2B fehérjét. A transzláció iniciációja ebben az esetben gátolt. Az általános metabolikus zavar valószínűleg mitokondriális diszfunkciót okoz, ami mitokondriális változásokkal (membránpotenciál változás, citokróm *c* kiáramlás) beindít egy apoptózishoz vezető kaszkád folyamatot.



2. ábra. Az eIF2B szerepe a PI 3-K/Akt/GSK-3 jelátviteli út szabályozásában.

A CREB transzkripciós faktor szerepe a túlélésben

A CREB a CREB/ATF családba tartozó 43 kDa molekulású, konstitutívan expresszáldó fehérje. A leucin cippzár transzkripciós faktor családba tartozik, amelynek tagjai homo- vagy heterodimer formában kötődnek a specifikus CRE szekvenciához. A fehérje transzkripciós aktiválása az N-terminális részen elhelyezkedő transzaktivációs doménben levő Ser-133 foszforilációjával történik. A foszforiláció a CREB fehérje CBP-hez (CREB-kötő fehérje) illetve transzkripciós faktorokhoz (TFIIB, TFIID) való kötődését stimulálja és ezáltal a CREB-szabályozott gének indukcióját okozza. Különböző extracelluláris stimulusok aktiválják a CREB fehérjét, amelyek multiplex jelátviteli utakon konvergálnak a 133-as szerin foszforilációján. CREB kinázok: protein kináz A (PKA), extracelluláris szignál regulált kináz (ERK), protein kináz C (PKC), kalmodulin kináz II. és IV. (CaMKII-IV.), p38 MAPK, pp70S6K, pp90RSK és az Akt/PKB. A CREB Ser-133 foszforilációjával konszenzus szekvencia jön létre a GSK-3 számára és foszforilálja a Ser-129-et. Az irodalomban ellentmondó adatok jelentek meg arra vonatkozóan, hogy a GSK-3 általi CREB Ser-129-es foszforiláció milyen hatással van a fehérje DNS-kötő aktivitására. Egy kutatócsoport szerint a GSK-3 foszforilációja fokozza, míg két másik kutatócsoport szerint pedig csökkenti a CREB fehérje PKA-indukálta DNS-kötő aktivitását. Leírták azt is, hogy humán neuroblasztoma sejtekben a GSK-3 inaktivációja (Akt aktivációjával vagy a GSK-3 gátló lítium adásával) fokozza a CREB DNS-kötő képességét. A PKA gátolja a GSK-3-at a Ser-9 direkt foszforilációjával, a PKA aktivációja pedig stimulálja a CREB fehérjét és csökkenti a GSK-3 gátló hatását.

Számos intracelluláris jelátviteli út központi eleme a különböző transzkripciós faktorok aktivitásának szabályozása. A CREB fehérje aktivitását a növekedési faktorok két jelátviteli úton keresztül szabályozzák. A receptorok aktivációját követően egyrészt olyan fehérjekinázok aktiválódnak (pl. PKA, Akt), amelyek a Ser-133-at foszforilálják és ezzel a CREB fehérje DNS-kötő képességét aktiválják, másrészt olyan jelátviteli utak is elindulnak, amelyek gátolják a GSK-3 aktivitását, így blokkolják gátló hatását a CREB fehérjére. Kutatásunk célja, hogy megvizsgáljuk a CREB Ser-129 és Ser-133 foszforiláció jelentőségét a sejttúlélés szabályozásában.

Kísérleteinkhez PC12 sejt vonalat használunk, mivel ezekben a sejtekben bizonyított, hogy a sejttúlélés fő közvetítője a PI 3-K/Akt/GSK-3 jelátviteli út, illetve a PKA a CREB fehérjén keresztül sejttúlélést közvetít. A CREB foszforilációs helyeinek megfelelően létrehozunk olyan expressziós plazmidokat, amelyekben a 129-es illetve a 133-as pozícióban levő szerin alaninra cseréljük ki irányított mutagenézissel. A pontmutációk ellenőrzését szekvenálással végeztük el. PC12 sejteket stabilan transzfektálunk vad-típusú CREB-et, S129A-t, S133A-t illetve mindkét mutációt tartalmazó S129A+S133A-t expresszáldó plazmidokkal.

A kutatás során az alábbi kérdésekre keresünk választ:

- a. Befolyásolja-e a mutáns CREB fehérjék overexpressziója PC12 sejtek proliferációját és differenciációját?

Vad-típusú PC12 sejtek, illetve vad-típusú CREB-et, S129A-t, S133A-t és S129A+S133A-t overexpresszáldó PC12 sejtek felhasználásával sejtszámlási és differenciációs kísérleteket végzünk. Irodalmi adatok alapján ismert, hogy a CREB-nek

forskolinnal, a cAMP-út hatásos stimulálójával kiváltott aktivációja PC12 sejtek neurit növekedéssel járó differenciációját stimulálja. Ez alapján valószínűsíthető, hogy a vad-típusú illetve mutáns CREB fehérjét overexpresszáló klónjaink neuronális differenciációt fognak mutatni.

- b. Milyen szerepet játszik a mutáns CREB fehérjék overexpressziója PC12 sejtekben a túlélési szignalizáció közvetítésében?

Vizsgálni fogjuk, hogy a PI 3-K/Akt jelátviteli út stimulációja és a GSK-3 gátlása (aktív Akt overexpressziója, domináns negatív GSK-3 overexpressziója, lítium adása) illetve a GSK-3 stimulációja (szérum megvonása, PI 3-K gátló adása, vad-típusú GSK-3 overexpressziója, domináns negatív PI 3-K overexpressziója) milyen hatással van a vad-típusú és a különböző mutáns CREB fehérjét overexpresszáló PC12 sejtek apoptózisára. A PKA jelátviteli út stimulálását a cAMP analógok (pl. dbcAMP) és a cAMP-t stimuláló forskolin kezeléssel, gátlását pedig PKA gátló szerekkel (pl. H-89) végezzük. Különböző apoptózis esszéket végzünk a különböző mutánsok túlélésének illetve apoptózisának vizsgálatára, mint pl.: magmorfológiai vizsgálat Hoechst-festést követően fluorescens mikroszkóppal, DNS-fragmentációs analízis, DNS mennyiség meghatározása és annexin V. festés áramlási citométerrel.

- c. Hogyan befolyásolja a GSK-3 és a PKA foszforilációja a CREB DNS-kötő aktivitását?

Mivel az irodalomban nem teljesen egyértelmű, hogy a CREB fehérje GSK-3 általi Ser-129-as foszforilációja hogyan befolyásolja a CREB DNS-kötő aktivitását, ezért gél-retardációs esszével vizsgálni fogjuk a mutánsok enhancer-kötő képességét különböző kezelések hatására.

- d. Befolyásolja-e a mutáns CREB fehérjék overexpressziója a túlélésben illetve apoptózisban szerepet játszó gének expresszióját PC12 sejtekben?

A Bcl-2 család anti-apoptotikus tagjai (pl. Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1) gátolják az apoptózist, mivel megakadályozzák a proteolitikus kaszpáz 9 aktiválódását. Irodalmi adatok alapján ismert, hogy az Akt a CREB foszforilációján keresztül fokozott Bcl-2 promoter aktivitással stimulálja a túlélést PC12 sejtekben. A túlélési szignálok hatására aktiválódó PI 3-K/Akt jelátviteli út a CREB fehérjén keresztül az Mcl-1 fokozott transzkripcióját hozza létre. A Bcl-2 és Mcl-1 gének promoterében megtalálható a CRE szekvencia, ezért Western blottal vizsgálni fogjuk, hogy különböző apoptotikus és anti-apoptotikus szignálok hatására hogyan változik ezen gének illetve egyéb anti-apoptotikus gének (pl. IAP fehérjecsald tagjai) expressziója a különböző mutáns PC12 sejtekben. Vizsgálni kívánjuk továbbá, hogy a kezelések hatására hogyan változik a proteolitikus kaszpázok aktivációja.

Protein kináz R szerepe az apoptózisban

A protein kináz R (PKR) 68 kDa molekulásúlyú, ubiquiter módon expresszálódó szerin/treonin specifikus protein kináz. Két funkcionálisan különböző doménből áll: az aminoterminális, két kettősláncú RNS-kötő domént tartalmazó regulatorikus és a karboxiterminális katalitikus doménből. A PKR különböző stressz szignálok (TNF, IFN, vírus

infekció) és növekedési faktorok hatására aktiválódik. A PKR aktivációja konformációváltást, a fehérje dimerizációját eredményezi, amely aktiválja a karboxiterminális katalitikus domént, majd autofoszforilálódik szerin és treonin aminosavakon. Az aktivált kináz az eukariota translációs iniciációs faktor eIF2 α alegységét foszforilálja a Ser51-es aminosavon. Az eIF2 α -GTP a transláció iniciációjához szükséges. Az iniciációs lépések végén keletkező eIF2 α -GDP-t az eIF2B aktiválja a guanin nukleotid kicserélésével. Az eIF2 α foszforilációjával az eIF2 az eIF2B kompetitív gátlójává válik, amely a fehérjeszintézis általános gátlását eredményezi.

A PKR-nek szerepe van a sejtnövekedésben, a differenciációban, az interferon indukálta antivirális válaszban és az apoptózis indukciójában. Az apoptózis előidézésében kétféle mechanizmus játszik szerepet. A PKR egyrészt foszforilálja és ezzel gátolja az eIF2 α alegységét, amely a transláció iniciációjának gátlása miatt apoptózist indukál, másrészt különböző, az apoptózis szabályozásában szerepet játszó transzkripciós faktor (STAT1, p53, NF κ B) aktivációját idézi elő.

Kísérleteinket PC12 sejtekkel végeztük, melyeket különböző hatásmechanizmussal apoptózist előidéző szerekkel kezeltünk, a fehérjeszintézist gátló anizomicinnel, növekedési faktorok megvonásával, a PI 3-K gátló LY294002-vel, a topoizomeráz II.-t gátló etopoziddal és a DNS bázisaihoz kovalensen kötődő ciszplatinnal. Vizsgáltuk a szerek hatását PC12 sejtek apoptózisára, melyet DNS fragmentációs analízissel mutattunk ki, a PKR proteolitikus hasítására, az eIF2 α foszforilációjára és kaszpázok aktiválódására.

Az általunk alkalmazott szerek apoptózist indukálnak PC12 sejtekben és a PKR proteolitikus hasítását idézik elő, amelynek időkinetikája korrelál az apoptózisra jellemző DNS fragmentáció megjelenésével. A proteolitikus hasítás a PKR aktivitását nem csökkenti, mivel a PKR szubsztrát eIF2 α foszforilációja fokozódik a kezelések hatására. Az alkalmazott szerek a kaszpáz-3 és kaszpáz-9 hasítását idézik elő, amely szorosán korrelál a DNS-létra kimutatással és a PKR hasítással.

További kutatási terveink között szerepel, hogy kaszpáz gátlószerek adásával vizsgáljuk, hogy a PKR proteolitikus hasítása kaszpázok közvetítésével történik-e, továbbá milyen egyéb fehérjék játszanak szerepet ebben az apoptózishoz vezető jelátviteli útban.

Közlemények:

Pap M., Cooper G. M. Role of glycogen synthase kinase-3 in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt cell survival pathway. *J. Biol. Chem.* 273, 19929-19932. 1998.

Pap M., Cooper G. M. Role of translation initiation factor 2B in control of cell survival by the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/glycogen synthase kinase 3 β signaling pathway. *Mol. Cell. Biol.* 2, 578-586. 2002.

Az előadásban bemutatott munka részben az OTKA (T 037528) és az ETT (073/2001) támogatásával készült.

Hősokk fehérjék szerepe szteroid hormonok és növekedési faktorok jelátvitelében

Ifj. Sétáló György, Berta Gergely és Szeberényi József

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Orvosi Biológiai Intézet

A hősokek proteinek (Hsp-k) a dajkafehérjék nagy családjának képviselői. Legtöbbet tanulmányozott képviselőik között megtaláljuk a Hsp90-t - egy 90 kDa molekulatömegű változatot - és ennek Grp 94 nevű, az endoplazmatikus retikulumban található homológját. Mindketten esszenciális és ubikviter fehérjék, melyek kulcsszerepet töltenek be számos egyéb protein sejtben belüli érésében, transzportjában, lokalizációjában és stabilitásában. A Hsp90 a sejtben nagy mennyiségben található, a citoplazmatikus fehérjék akár 1-2%-át is kiteheti. *In vivo* dimerizálódva fordul elő, és heterokomplexeket alkot. Ezeknek részei lehetnek ko-chaperonokon kívül még szteroid receptorok, de sejtípustól függően több jelátviteli fehérje az ERK kaszkádból is. Az utóbbiak közül irodalmi közlések említik a Ras-t, a Raf-ot a MEK-et. A Hsp90 tartalmú komplex védi a fehérjéket a degradációtól, elősegíti funkcionálisan kedvező térszerkezetük megtartását és megfelelő sejtben belüli elhelyezkedésüket. A Grp 94 hasonló dajkafunkciókat lát el az érintett fehérjék endoplazmás retikulumban zajló szintézise során.

A geldanamicin nevű antibiotikum hozzákötődik a Hsp90-hez és a Grp94-hez, gátolva azok funkcióit. Ennek következtében a Hsp90 tartalmú komplexek - sejtípustól függően - szét is eshetnek, miáltal a felszabadult jelátviteli fehérjék féléletideje és/vagy aktivitása lecsökken, az általuk serkentett jelátviteli utak pedig szétkapcsolódhatnak.

A szteroid hormonok hagyományos mechanizmusukkal a transzkripció regulátoraiként fejtenek ki fontos szabályozó hatást a sejtben. A ligand nélküli receptor a citoplazmában hősokek fehérjékhez – köztük pl. Hsp90-hez - kötötten várja a hormon érkezését. A ligand bekötődésekor a dajkafehérjék disszociálnak a receptorról, ami dimerizációt követően a sejtmagba jut, és specifikus gének átírásának befolyásolásával fejt ki hatását.

Az utóbbi években mind gyakrabban számolnak be irodalmi jelentések arról, hogy szteroid hormonok képesek különféle fehérjékináz kaszkádok aktiválására is. Így az általunk tanulmányozott ösztrogén hatására is leírták a proteinkináz A és a kalcium- és kalmodulin-függő proteinkináz (CaM-kináz) stimulációján keresztül létrejövő CREB transzkripciófaktor aktivációt (Zhou és mtsai, 1996, Gu és mtsai, 1996, Murphy és mtsai, 1997), proteinkináz C aktivációt (Ansonoff és Etgen, 1998), foszfatidilinozitol 3-kináz és Akt kináz aktivációt (Singh M., 2001), Src aktivációt (Nethrapalli és mtsai, 2001), valamint az extracelluláris szignál-regulált fehérjékináz (ERK) serkentését is (Zhou és mtsai, 1996, Endoh és mtsai, 1997, Migliaccio és mtsai, 1996, Singh és mtsai, 1999, 2000). Az ERK kaszkádot főként polipeptid növekedési faktorok használják jelátvitelükhöz. Ennek során az aktivált növekedési faktor receptor a Ras GTP-kötő fehérjén keresztül a Raf, MEK, majd ERK kinázokon át továbbítja a szignált. Az aktivációs folyamat végső hatása függ a sejtípustól, az aktiváció időbeli lefolyásától, és az aktivált ERK sejtben belüli elhelyezkedésétől is. Időben elnyújtott aktiváció szükséges ahhoz, hogy az aktivált ERK áthelyeződjön a citoplazmából a sejtmagba,

és ott hatékonyan megváltoztassa a génexpresszió mintázatát. A PC12 patkány feokromocitóma sejtvonalban ez esetben a sejtek szimpatikus neuronális irányba kezdenek differenciálódni.

Dr. Dominique Toran-Allerand professzorasszony a hetvenes években figyelte meg, hogy fejlődő patkány és agykéreg szelet tenyészetek erőteljesebb és gazdagabb neuritokat növesztenek, ha tenyésztő folyadékukat 17- β -ösztadiollal egészítette ki. A morfológiai megfigyeléseket követően a jelenség molekuláris mechanizmusának kutatásába kezdett a munkacsoport, amikor is lehetőségem adódott bekapcsolódni kísérleteikbe.

Az ösztrogén általi ERK aktiváció lehetőségének ismeretében először azt vizsgáltuk, hogy megfigyelhető-e ez a jelenség tenyészetekben. Ösztrogén kezelés hatására gyors és időben elnyújtott ERK aktivációt tapasztaltunk, ami irodalmi megfigyelések szerint is kedvez az idegsejt irányú differenciálódásnak. Az aktiváció részletes mechanizmusát kutatva azt a B-Raf és MEK1/2 enzimek működésétől függőnek, a fehérjeszintézistől viszont függetlennek találtuk. Az aktivált ERK sejten belüli elhelyezkedését vizsgálva az enzimet sikerült kimutatnunk a citoplazmában és a sejtnyúlványokban épp úgy, mint a sejtmagban, a fehérjeszintézis gátlását követően azonban eltűnt a nukleáris foszfo-ERK jel. (Az ERK aktivációja során az enzim tirozin és treonin aminosavakon foszforilálódik, így e foszforiláció kimutatása jó indikátora az enzim aktivációjának is.) Az ösztrogén kezelést követően aktív ERK-et tartalmazó sejtek tartalmazták a mikrotubulus-asszociált fehérje 2B izoformáját is, alátámasztva e sejtek neuronális eredetét. Nem aktiválódott viszont ösztrogén kezelésre a TrkA neurotrofin receptor, kizárva annak lehetőségét, hogy a megfigyelt hatások mögött ösztrogén kezelésre a szövetből felszabaduló endogén neurotrofinok működése állna.

Ezt követő kísérleteink során ko-immunprecipitációs technikával azt mutattuk ki, hogy az ERK1/2 és a Hsp90 kapcsolódnak egymáshoz a sejten, s ezt a kapcsolatot geldanamycin adásával sikerült felbontanunk. Ilyen körülmények között az ERK aktiváció drámai gyengülését észleltük, s a MEK1/2 aktivitás együttes mérésével arra a következtetésre jutottunk, hogy az ERK1/2 és a Hsp90 asszociációja funkcionális jelentőséggel bír az ERK1/2-nek a MEK2 általi hatékony aktiválása során. Az a tény, hogy ösztrogén kezelést követően az ERK1/2 aktiváció a MEK2 közvetítésével jön létre, legvalószínűbben fejlődéstani okokra vezethető vissza, amennyiben az egyedfejlődés korai fázisaiban, az általunk vizsgált fajokban a 2-es MEK izoforma expressziója dominál az 1-esé felett.

Itthoni munkacsoportunkban a geldanamycin hatását PC12 sejtekben vizsgálva mások megfigyeléseivel egybevágó módon azt tapasztaltuk, hogy a szer nagyobb dóziséval hosszabb ideig kezelve a tenyészeteket, azok apoptózissal elpusztulnak, s ez idegi növekedési faktor (NGF) együttes adásával sem védhető ki. Csökkentve a geldanamycin dózist és a szerrel történő inkubáció idejét azonban elérhető, hogy a sejtek túléljék a kezelést, az NGF adásával előidézhető ERK aktiváció azonban már ekkor jelentősen gyengül. Az ERK kaskád fehérje elemeinek expresszióját vizsgálva megállapítottuk, hogy az ERK1/2, a MEK1, B-Raf, c-Raf-1 és H-Ras fehérjék szintje nem változott geldanamycin kezelésre, ahogy a Hsp90 és Grp94 fehérjék expressziója sem. A TrkA NGF receptor mennyisége azonban igen erősen lecsökkent geldanamycin hatására. Ezt a csökkenést a proteaszóma funkciójának kémiai gátlásával részben sikerült kivédnünk. A geldanamycin által okozott programozott sejthalál NGF rezisztenciájának hátterében tehát az egyik döntő tényező az antibiotikum által előidézett proteaszómális TrkA lebomlás állhat. A jelenség további részleteinek megértésén jelenleg is aktívan dolgozik munkacsoportunk.

Eredményeinkkel hozzájárultunk ahhoz, hogy a 90 kilodaltonos hősokk fehérjéknek a sejt jelátviteli folyamataiban betöltött szerepét jobban megérthessük. Kísérleti adataink jelentőségét tovább fokozza, hogy a geldanamycin egyes kémiaailag módosított származékai hatékony daganatellenes szerekeknek bizonyultak, s már a humán gyógyászatban is a klinikai kipróbálás korai fázisaiban tesztelik terápiás alkalmazhatóságukat.

Irodalom:

- Ansonoff, MA, Etgen, AM. (1998). Estradiol elevates protein kinase C catalytic activity in the preoptic area of female rats. *Endocrinology* **139**: 3050-3056.
- Endoh, H, Sasaki, H, Maruyama, K, Takeyama, K, Waga, I, Shimizu, T, Kato, S, and Kawashima, H. (1997). Rapid activation of MAP kinase by estrogen in the bone cell line. *Biochem Biophys Res Commun* **235**: 99-102.
- Gu, G, Rojo, AA, Zee, MC, Yu, J, Simerly, RB. (1996). Hormonal regulation of CREB phosphorylation in the anteroventral periventricular nucleus. *J Neurosci* **16**: 3035-3044.
- Migliaccio, A, Di, DM, Castoria, G, de, FA, Bontempo, P, Nola, E, and Auricchio, F. (1996). Tyrosine kinase/p21ras/MAP-kinase pathway activation by estradiol- receptor complex in MCF-7 cells. *EMBO J* **15**: 1292-300.
- Murphy, DD, Segal, M, (1997). Morphological plasticity of dendritic spines in central neurons is mediated by activation of cAMP response element binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**: 1482-1487.
- Nethrapalli IS et al. (2001). Estradiol (E2) elicits SRC phosphorylation in the mouse neocortex: the initial event in E2 activation of the MAPK cascade? *Endocrinology*. **142**: 5145-8.
- Singh, M, Sétáló, G, Jr, Guan, XP, Warren, M and Toran-Allerand, CD. (1999). Estrogen-induced Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase in Cerebral Cortical Explants: Convergence of Estrogen and Neurotrophin Signaling Pathways. *J Neurosci* **19**: 1179-1188.
- Singh, M, Sétáló, G, Jr, Guan, XP, Frail, DE and Toran-Allerand, CD. (2000). Estrogen-induced Activation of the MAP Kinase Cascade in the Cerebral Cortex of Estrogen Receptor- α Knockout (ERKO) Mice. *J Neurosci* **20**: 1694-1700.
- Zhou, Y, Watters, JJ, Dorsa, DM. (1996). Estrogen rapidly induces the phosphorylation of the cAMP response element binding protein in rat brain. *Endocrinology* **137**: 2163-2166.
- Singh M. (2001) Ovarian hormones elicit phosphorylation of Akt and extracellular-signal regulated kinase in explants of the cerebral cortex. *Endocrine*. Apr; **14**: 407-15.

Az előadásban bemutatott munka részben az OTKA (T 037528) és az ETT (073/2001) támogatásával készült.



Nyolcvanéves az Orvosi Biológiai Intézet

A Pécsi Tudományegyetem (PTE) Általános Orvostudományi Karának (ÁOK) Orvosi Biológiai Intézete és a Pécsi Akadémiai Bizottság (PAB) Sejtbiológiai Munkabizottsága 2003. szeptember 17-én, a PAB Székházában (Pécs, Jurisics M. u. 44.) tudományos ülés keretében emlékezett meg az intézet megalakulásának 80. évfordulójáról.

A program dr. Szeberényi József, az intézet igazgatójának megnyitóját követően dr. Lénárd László, a PTE rektorának, majd dr. Nagy Judit, a PTE ÁOK tudományos dékán-helyettesének üdvözlő szavaival kezdődött.

Ezt követően Sragner Márta, a Baranya Megyei Könyvtár munkatársának előadását hallhatták a jelenlévők Gorka Sándor, az intézet alapítójának életútjáról és munkásságáról, majd dr. Komáromy László, az Orvosi Biológiai Intézet docensének összeállítása következett „Mozaikok az intézet életéből” címmel. Ezután dr. Pupp András, az intézet nyugalmazott docense mondta el „Egy senior visszaemlékezései” című beszédét. A pécsi munkaközösség korábbi, időközben más intézetekbe távozott kollégái közül is többen eljöttek. Így hallhatták a jelenlévők dr. Molnár János, a Szegedi Tudományegyetem Orvosi

Élettani Intézetének professzorától a „Találkozások a modern biológiával”, dr. Sáfrány Géza, az Országos Sugárbiológiai Intézet osztályvezető főorvosától pedig az „Agydaganatok kezelése génterápiás eljárásokkal” című előadásokat. Szeberényi József professzor az intézet legutóbbi 11 évének fontosabb történéseit foglalta össze, majd két fiatal kollégája ismertette jelenleg is folyó tudományos tevékenységét. Dr. Pap Marianna egyetemi adjunktus az emlős sejtekben vizsgált túlélési és apoptotikus jelátviteli folyamatokról beszélt, ifj. dr. Sétáló György egyetemi adjunktus pedig a hősokk fehérjék szerepéről tartott ismertetőt a szteroid hormonok és a növekedési faktorok jelátvitelével kapcsolatban.

A visszaemlékezések és tudományos előadások után dr. Méhes Károly, egyetemi tanár, akadémikus, a PAB elnökének méltató szavaival zárult az ülés, amit a PAB Székházának Nagytermében szervezett állófogadás követett. Itt dr. Szabó László, a PAB Biológiai Szakosztálya elnökének kedves köszöntője után záróráig folytatódott a beszélgetés tudományról, s emlékekről egyaránt.

IFJ. SÉTÁLÓ GYÖRGY
PTE ÁOK, BIOLÓGIAI INTÉZET