

Ráðstefna Efnafræðifélags Íslands

Reykholti 23.–24. sept. 2000

Laugardagur:

- 8.45 – 9.30 *Skráning*
9.30 – 9.35 Ávarp: Ingvar Árnason, formaður Efnafræðifélags Íslands.
9.35 – 9.40 Setning ráðstefnu: Valgerður Sverrisdóttir, iðnaðarráðherra.

I. Framleiðsla og nýting vetnis á Íslandi:

Fundarstjóri Ingvar Árnason

- 9.40 – 10.20 Bragi Árnason: Frá olíu til innlendra vistvænna orkugjafa.
10.20 – 10.50 Þorsteinn Hannesson: Endurvinnsla á Grundartanga – framtíðarsýn.
10.50 – 11.10 *Kaffi*
11.10 – 11.40 Glúmur Björnsson: Verða olía og kol helstu orkugjafarnir í framleiðslu vetnis?
11.40 – 12.10 Teitur Gunnarsson: Vetnisbílar – bílar framtíðarinnar?
Hádegisverður

II. Umhverfismál:

Fundarstjóri Guðjón Jónsson

- 14.00 – 14.40 Stefán Einarsson: Þrávirk mengunarefni – innlent og erlent vandamál.
14.40 – 15.10 Kristín Ólafsdóttir: Mengun frá þrávirkum lífrænum efnum í lífríki Íslands.
15.10 – 15.40 Guðjón Atli Auðunsson: Lesið í fráveituvatn: Hegðun, samsetning og afdrif á Stór-Reykjavíkursvæðinu.
15.40 – 17.00 *Veggspjaldakynning / Kaffi*

III. Háskólamenntun efnafræðinga; hlutverk háskóla og þarfir atvinnulífsins:

Fundarstjóri Elín G. Guðmundsdóttir

- 17.00 – 18.30 Pallborðsumræður; framsögumenn: Ágúst Kvaran, Guðjón Jónsson Guðmundur G. Haraldsson, Jón Ásgeirsson, og Baldur Hjaltason.
20.00 *Kvöldverður*

Sunnudagur:

- 8.00 – 8.45 *Morgunverður*

IV. Íslensk erfðagreining og líftækni:

Fundarstjóri Ágúst Kvaran

- 9.00 – 9.40 Kári Stefánsson: Erfðafræði flókinna sjúkdóma.
9.40 – 10.10 Þorlákur Jónsson: Kortlagning meingena.
10.10 – 10.30 *Kaffi*
10.30 – 11.00 Timothy Hemesath: From genes to pathways via protein-protein interactions.
11.00 – 11.30 Jón Bragi Bjarnason: Ensímrannsóknir í aldarfjórðung – grunnur fortíðar, hagnýting framtíðar.
11.30 – 12.00 Jakob K. Kristjánsson: Rannsóknir á hveraörverum og nýsköpun.
12.00 *Ráðstefnuslit / Hádegisverður*

*Ráðstefna Efnifræðifélags Íslands
er styrkt af eftirtöldum aðilum*

Efnaverkfræðideild VFI

*Gróco hf
Merck Eurolab
Perkin Elmer*

Iðntæknistofnun Íslands

Íslenskri erfðagreiningu hf

Málningu hf

VSÓ Ráðgjöf

Ráðstefna Efnafraeðifélags Íslands

Reykholti 23.-24. sept. 2000

Ágrip

Bragi Árnason, Raunvísindastofnun Háskólans:

Frá olíu til innlendra vistvænna orkugjafa

Í erindinu er fjallað um það, hvernig Íslendingar gætu í framtíðinni nýtt innlendar orkulindir í stað innfluttrar olíu og bensíns, en af virkjanlegum orkulindum hefur hingað til aðeins verið virkjaður lítill hluti. Reifaður er sá möguleiki að framleiða metanól úr vetni og afgangi frá stóriðju, en þannig framleitt metanól mundi nægja til að knýja allan bíla- og fiskiskipaflota landsmanna sem nú brennir bensíni og olíu. Gerð er grein fyrir tilurð hlutafélagsins "Íslensk Ný Orka", sem er í eigu innlendra og erlendra aðila og var stofnað til að hrinda í framlvæmd vetnis- eða metanólvæðingu Íslendinga í fimm áföngum. Talið er að úr vatnsorku og jarðhita á Íslandi megi framleiða 50 TWh á ári af raforku. Nú þegar eru framleiddar 7,9 TWh á ári. Ef framleiða ætti vetni eða metanól sem kæmi í stað alls bensíns og olíu sem bíla- og fiskiskipaflotinn notar nú þyrfti til þess 3,7 TWh á ári. Þá mundi útstreymi gróðurhúsalofttegunda á Íslandi af manna völdum minnka um 57% frá því sem það er nú.

Þorsteinn Hannesson, Íslenska járnblendifélagið hf:

Endurvinnsla á Grundartanga - Framtíðarsýn

Í verksmiðju Járnblendifélagsins á Grundartanga eru starfræktir þrjú ljósbogaofnar til framleiðslu á kísiljárn. Þessir ofnar nota um 1000 GWh raforku á ári. Helsta efnafeli framleiðslunnar er afoxun á kvarsí, þar sem kolefni er notað sem afoxunarmiðill. Kolefnin eru að mestu innflutt kol og koks. Framleiðslunni fylgir því óhjákvæmilega losun gróðurhúsalofttegunda. Samtals er losunin rúmlega 400.000 tonn af koldíoxíði árlega. Með því að nota endurunnin hráefni er unnt að draga úr þessari losun. Einnig verða kannaðir möguleikar á að breyta nýjum ofni fyrirtækisins, þannig að vinna megi kolmónoxíð og vetni úr afgangi ofnsins, en þessar gastegundir væri t.d. unnt að nota sem hráefni í önnur framleiðsluferli.

Teitur Gunnarsson, Verkfræðistofa Guðmundar og Kristjáns hf.:

Vetnisbílar

Líkur á að bílafjöldi þrefaldist á næstu 30 árum og ákvæði Kyoto samkomulagsins eru megin ástæður þess að leitað er nýrra leiða til að draga úr mengun frá bílum. Tilraunum með notkun vetnis á brunavélar hefur verið hætt vegna hærri nýtni efnarafala.

Nokkrar mismunandi gerðir efnarafala eru í þróun, en flestir telja að efnarafalar með prótónugegndræpri þind (PEMFC) séu heppilegastir til notkunar í farartækjum. Notkun platínu í þeim getur orðið takmarkandi þáttur vegna lítils framboðs platínu á heimsmarkaði.

Hreint vetni gefur besta nýtni í efnarafölunum, en vegna vandamála við dreifingu þess verður væntanlega metanól notað á einkabíla. Aðferð sem er blanda gufuumbreytingar og hlutoxunar (autothermal reforming) verður notuð til að framleiða vetni í bílum úr metanólinu. Búnaðurinn sem venjulega er á stærð við stærstu hús hefur verið minnkaður niður þ.a. hann kæmist fyrir í bjórdós.

Heildarnýtni efnarafalabíla getur orðið allt að tvöföld miðað við nýtni bensínbíla. Hækkandi verð á bensíni undanfarna mánuði og lágt verð á metanóli eykur áhuga á efnarafalaknúnum bílum. Allir helstu bílaframleiðendur heims ætla að setja efnarafalabíla á markað.

Ekki er ljóst í hverju nýsköpun íslendinga á að fólgin í samstarfi við DaimlerChrysler. Samningurinn lokar í reynd fyrir samstarf við aðra aðila.

Stefán Einarsson, Hollustuvernd ríkisins:

Þrávirk mengunarefni, innlent og alþjóðlegt vandamál

Í hópi þrávirkra lífrænna mengandi efna eru klórlífræn varnarefni, þ.m.t. DDT, iðnaðarefni PCB og DDT, og díoxín/furan efni sem ásamt PAH efnum myndast aðallega við bruna. Þessi efni berast auðveldlega langar leiðir með loftstraumum. Vegna þrávirkni, eiturvirkni og vatnsfælni, sem leiðir til uppsöfnunar í lífverum, eru þau ógnun við lífríki fjarri upprunastað sínum, t.d. á svæðum norðan heimskautsbaugs.

Til þess að takast á við þetta vandamál er þörf á samstilltu alþjóðlegu átaki. Gerð var samþykkt um aðgerðir árið 1998 meðal ríkja sem eru aðilar að Oslóar-Parísar samkomulaginu (OSPAR). Árið 1998 var gert svæðisbundið samkomulag, Árósasamkomulagið, innan vébanda Efnahagsnefndar Sameinuðu þjóðanna fyrir Evrópu um bann við framleiðslu og notkun varnarefnanna og um að dregið skyldi úr losun annarra efna. Nú er unnið að gerð alheimssamnings, sem gert er ráð fyrir að verði undirritaður á næsta ári.

Kvikasilfur berst einnig auðveldlega með loftstraumum. Með hjálp örvera, sérstaklega við loftfirrðar aðstæður, getur kvikasilfur ummyndast í metýlkvikasilfur og safnast þannig fyrir í lífverum. Vegna eiturvirkni kvikasilfurs hefur verið dregið mjög úr notkun hans í iðnríkjunum. Kvikasilfur er þó enn víða í notkun í ýmsum búnaði sem hefur langan endingartíma. Mikilvægt er að þessar vörur lendi ekki í almennri sorpförgun að notkun lokinni. Þegar hefur vaknað áhugi um gerð alþjóðlegs samnings til þess að draga úr losun kvikasilfurs út í umhverfið.

Kristín Ólafsdóttir, Rannsóknastofu í lyfja- og eiturefnafræði, H.Í:

Mengun frá þrávirkum lífrænum efnum í lífríki Íslands

Þrátt fyrir litla notkun þrávirkra lífrænna efna hér á landi, eru þau til staðar í íslensku lífríki eins og alls staðar annars staðar í heiminum. Við höfum rannsakað magn um 30 mismunandi þrávirkra klórefna í úrkomu og lofti við Stórhöfða í Vestmannaeyjum samfleytt í 5 ár og höfum fundið nokkuð af léttustu þrávirku efnunum en þó frekar lítið magn miðað við það sem berst til S-Noregs og Svalbarða. Hins vegar fannst mjög mikið magn þrávirkra efna í fálkum, en minna magn í fuglum sem eru neðar í fæðukeðjunni. Yfirleitt finnst meira magn í farfuglum en sambærilegum staðfuglum og meira magn er í fuglum sem fá fæðu sína úr sjó en þeim sem lifa af fæðu af landi og magnið eykst stöðugt með aldri. Við höfum rannsakað árstíðasveifur á magni efnanna og fundið að styrkur efnanna eykst mikið í lifur og vöðva á útungunartímabilinu. Þá höfum við skoðað þróun mengunarinnar yfir 19 ára tímabil frá 1977-1996 og virðist magn sumra efnanna fara minnkandi en magn þrávirkustu efnanna stendur í stað. Að mestu leyti virðist mengunin berast í fuglana upp fæðukeðjuna, en við höfum þó fundið dæmi um nokkra staðbundna mengun. Þá höfum við greint þrávirk lífræn klórefni í Íslendingum, bæði í móðurmjólk og í plasma. Magn efnanna er sambærilegt eða aðeins hærra í Íslendingum en í öðrum Norðurlandabúum, nema í Færeyingum. Ekki virðist mikill munur á magni efnanna eftir búsetu á Íslandi en magnið hækkar með aldri fólks.

Guðjón Atli Auðunsson, Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins:

Lesið í fráveituvatn: Hegðun, samsetning og afdrif á Stór-Reykjavíkursvæðinu

Frá 1990 hafa farið fram umfangsmiklar umhverfisrannsóknir á viðtaka frárennslis frá Reykjavík og nágrennanbyggðalögum en fyrstu rannsóknirnar í þessum tilgangi fóru þó fram 1970 og voru þær framkvæmdar af Isotopcentralen, Kaupmannahöfn. Þessar rannsóknir hafa verið unnar fyrir Gatnamálastjórnann í Reykjavík og að þeim hafa staðið fjölmargir aðilar: Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins, Verkfræðistofan Vatnaskil, Hafrannsóknastofnunin, Jarðfræðistofa Kjartans Thors og Líffræðistofnun Háskóla Íslands.

Um tvo losunarstaði fráveituvatns er að ræða frá Stór-Reykjavíkursvæðinu, annars vegar 4-4,5km norðvestur af hreinsistöðinni í Ánanaustum og hins vegar 4,8-5,5km norðnorðvestur af áætlaðri hreinsistöð við Klettagarða, sem gert er ráð fyrir að taki til starfa innan fárra ára. Líta má á bæð þessi losunarsvæði sem einn og sama viðtaka fráveituvatnsins þegar framkvæmdum verður lokið.

Kvaðir Mengunarvarnareglugerðar um hreinsun fráveituvatns taka mið af því um hvernig viðtaka er að ræða og þarf viðtaki að hafa verið skilgreindur sem annaðhvort viðkvæmur eða síður viðkvæmur áður en til losunar kemur. Viðtaki frárennslis frá hreinsistöðinni við Ánanaust, sem tók til starfa í byrjun árs 1998, var skilgreindur sem síður viðkvæmur 1997 en það felur í sér strandsjó eða hafsvæði, þar sem losun skolps hefur ekki skaðleg áhrif á umhverfið vegna formfræði þess og það örra vatnsskipta að lítil hætta er talin á næringarauðgun eða uppsöfnun lífrænna efna á botni. Í öðru lagi er losunarsvæðið valið með tilliti til þess að þynningarsvæði verði sem minnst og að ákvæðum Mengunarvarnareglugerðar um leyfilegt hámarksmagn saurkóligerla eða saurkokka utan þynningarsvæðis sé fullnægt. Í þriðja lagi var ákveðið af stjórnendum fráveitumála Stór-Reykjavíkursvæðisins að beita í fyrstu aðeins eins þreps hreinsun á frárennslíð, en það felur í sér meir en 20% lækkun í BOD₅ og a.m.k. 50% lækkun í styrk svifagna. Grófsíun, sem fer fram í hreinsistöðinni við Ánanaust auk fitufleytingar og sandfangs, telst vera eins þreps hreinsun samkvæmt Mengunarvarnareglugerð en án ofangreindra skilyrða. Að viðhafa aðeins eins þreps hreinsun krefst þess hins vegar að losun fari fram á síður viðkvæmu svæði og að ítarlegar rannsóknir sýni að frekari hreinsun hafi ekki umhverfisbætandi áhrif.

Til þess að geta fullnægt þessum þremur skilyrðum áður en til losunar kom, hafa farið fram ítarlegar rannsóknir á eftirfarandi þáttum:

- i) meginefni, snefilefni og örverur í fráveituvatni,
- ii) sólarhrings- og árstíðahegðun rennslis og efnabátta,
- iii) straummælingar á losunarsvæðum,
- iv) rannsóknir á dreifingu frárennslis (efna og örvera) í sjó,
- v) líftími saurkóligerla í sjó eftir árstímum,
- vi) líkanareikningar sem spá fyrir um dreifingu örvera á losunarstað,
- vii) myndataka botns eftir legu útrása og samfelldar myndatökur botns á losunarstöðum til mats á viðverutíma og hegðun sets og lífræns efnis (tvær myndir á sólarhring í rúmt ár),
- viii) rannsóknir á flæði og gerð setagna á losunarsvæðum með setgildrum,
- ix) rannsóknir á uppsöfnun örvera og snefilefna í krækling, sem komið er fyrir í búrum á legu útrása og á losunarsvæðum,
- x) kortlagning botndýralífríkis á losunarsvæðum.

Hluti þessara rannsókna verður endurtekinn eftir að losun hefst svo gera megi grein fyrir raunverulegum áhrifum meðhöndlunar og losunar frárennslis frá hreinsistöðvunum. Þessar rannsóknir standa nú yfir er varðar losun frá Ánanaustum eingöngu.

Gerð verður grein fyrir helstu niðurstöðum þessara verkefna, sérstaklega er varðar efnafræðihluta þeirra.

Kári Stefánsson, Íslensk erfðagreining:

Erfðafræði flókinna sjúkdóma

Kortlagning meingena hinna algengu sjúkdóma hefur reynst nokkuð erfið. Ástæðan er líklegast að hluta til sú að þessir sjúkdómar eru erfðafræðilega séð frekar flóknir. Önnur ástæða kann að vera sú að aðferðafræði sú sem menn hafa stuðst við til þessa er að einhverju leyti gölluð; flestar birtar tilraunir til þess að kortleggja meingen hinna algengu/flóknu sjúkdóma hafa byggt á systkinarannsóknum, sem er ekki mjög öflug aðferð.

Ég mun fjalla um aðferð til að kortleggja meingen algengra/flókinna sjúkdóma sem felur í sér að bera saman lista yfir meirihluta sjúklinga þjóðar (Íslendinga) sem greinst hafa með tiltekinn sjúkdóm og ættfræðigrunn (Íslendingabók) og ákvarða þannig innbyrðis skyldleika sjúklinganna. Þessi aðferð byggir einnig á því að rannsaka tiltölulega fjarskylda einstaklinga (allt að áttmenninga), til að hámarka notagildi erfðafræðilegra upplýsinga. Þá byggir þessi aðferð á því að nota breiða (en ítarlega) skilgreiningu svipgerðar þegar listar yfir sjúklinga eru settir saman, en kortlagning meingena er einungis gerð fyrir þá einstaklinga hinna breiðu svipgerðar sem hafa að geyma þá/þær svipgerðir sem ganga í erfðir. Ég mun sýna nokkur dæmi þar sem þessi aðferðafræði hefur leitt til kortlagningar meingena flókinna sjúkdóma, þ.á.m. psoriasis, hjartadrep, slitgigt, heilablóðfall, beinþynning og geðklofi.

Þorlákur Jónsson, Íslensk erfðagreining:

Kortlagning meingena

Rannsóknir sem miða að því að ákveða staðsetningu meingena á litningum njóta góðs af tiltölulega mikilli einsleitni íslensku þjóðarinnar og ítarlegum ættfræðiupplýsingum. Einstaklingar eru valdir til þátttöku með því að nota þar til gerðan ættfræðigrunn (Íslendingabók) til að skilgreina fjölskyldur með tiltekinn sjúkdóm. Þegar það hefur verið gert og sýni fengin með upplýstu samþykki, er beitt aðferðum tengslageiningar til að finna staðsetningu meingena. Er það gert með því að skoða arfgerðir hundruða sjúklinga og ættingja þeirra fyrir allt að eitt þúsund fjölforma erfðamörk. Tengsl við einn (eða fleiri) stað í erfðamenginu eru fundin með tölfræðilegum aðferðum þar sem einungis arfgerðir veikra einstaklinga eru lagðar til grundvallar útreikningum, en sýni úr ættingjum sjúklinga eru notuð til að meta hvort samsætur erfðamarká séu eins að erfðum. Þegar fundist hafa tengsl við ákveðið svæði er bætt við erfðamörkum á því svæði. Nauðsynlegt er að kortleggja svæðið fyrir úrvinnslu þessara gagna, og er það gert með því að beita aðferðum sem byggjast á þáttapörum og raðgreiningarupplýsingum annars vegar, og upplýsingum um arfgerðir í kjarnafjölskyldum (foreldrar og börn þeirra) hins vegar. Staðsetning meingens er á þessu stigi nánar þrengd með því að bera saman setraðir sjúklinga, og í kjölfarið er svæðið raðgreint, leitað að genum í DNA röðunum og að síðustu stökkbreytingum í þeim genum sem kunna að finnast. Sýnd verða dæmi úr rannsóknum þar sem þessi aðferðafræði hefur verið notuð með góðum árangri, þ.á.m. í rannsóknum á heilablóðfalli og Alzheimer sjúkdómi.

Timothy Hemesath, Íslensk erfðagreining:

From Genes to Drug Targets via Protein-Protein Interactions

Positional cloning of genes contributing to complex human diseases is most effectively accomplished through the use of isolated populations. Once identified as a critical component of a disease process, it is useful to place a disease gene product within a broader biological context by identifying pathways or networks within which it functions. Protein complex isolation followed by mass spectrometry, coupled with high-throughput protein-protein interaction screens, can result in a wealth of new information regarding disease pathways. Proteins identified in this way broaden both the potential for disease intervention by expanding the number of new drug targets, as well as offer the opportunity for mutational analysis and diagnostic tools to extend health care benefits to diverse populations.

Öflugasta leiðin til að finna meingen hinna flóknu erfðasjúkdóma er sú að notast við einangraðar þjóðir. Þegar staðfest hefur verið að meingen og genaafurð þess taki þátt í myndun sjúkdóms, er afar gagnlegt að skilgreina virkni viðkomandi genaafurðar í líffræðilegu ferli. Hægt er að afla mikilvægra upplýsinga um þau efnaferli sem leiða til sjúkdóms með því að einangra prótein komplexa og greina þá með aðferðum sem byggja á notkun massagreina. Auk þess má beita aðferðum sem miða að því að leita uppi prótein sem mynda komplexa með því próteini sem talið er taka þátt í myndun sjúkdóms. Með þessum hætti má auka líkurnar á því að hægt verði að koma í veg fyrir myndun sjúkdóms þar eð fjöldi lyfjamarka (drug targets) eykst, en einnig má nýta þessar upplýsingar til að þróa greiningaraðferðir sem aftur leiðir til aukinnar og betri heilsugæslu fyrir komandi kynslóðir.

Jón Bragi Bjarnason, Raunvísindastofnun Háskólans:

Ensímrannsóknir í aldarfjórðung – grunnur fortíðar, hagnýting framtíðar

Rannsóknir okkar á ensímum, eðli þeirra og eiginleikum, hófust fyrir rúmum aldarfjórðungi með rannsóknnum á blæðingarensímum úr eitri skröltormsins *Crotalus atrox* eða western diamondback rattlesnake. Ensímin hafa nú hlotið heitið atrolysin og tilheyra stórum flokki málmpróteinasa sem nefnist Reprolysin. Rannsóknir á ensímum úr þorski hófust svo á Raunvísindastofnun árið 1978, en samstarf okkar við Jay. W. Fox, prófessor við læknaskóla Virginíuháskóla í Charlottesville um rannsókir á báðum þessum ensímflokkum, hófst fjórum árum síðar. Samstarfið um þessar grunnrannsóknir í ensímfræðum hefur staðið alla tíð síðan og fjallað meðal annars um hreinsun ensímanna, eðli þeirra og eiginleika, og læknisfræðilega þýðingu þeirra.

Jafnframt þessum grunnrannsóknnum hófust nytjarannsókir á þorskaensímum um miðjan níunda áratuginn með rannsóknnum og þróunarvinna á uppþrepun á vinnslu Kríótíns, ensímblöndu úr þorski, eðli ensímblöndunnar, hreinsun einstakra ensíma úr blöndunni, auk rannsókna á vettvangi hagnýtingar Kríótíns, einkum til notkunar í fiskvinnslu og matvælaíðnaði. Á undanförmum fjórum árum höfum við einnig stundað rannsóknir á eiginleikum euphaulysins, próteasa úr ljósátu, og vinnslu og hreinsun þessa ensíms til klínískra rannsókna. Því stórverkefni er nú að mestu lokið.

Afrakstur þessara rannsókna hefur birst í fjölda greina í erlendum lífefnafræðiritum og stofnun og rekstri nokkurra fyrirtækja sem eru að kynna afurðir sínar á markaði um þessar mundir. Í erindinu verður fjallað um helstu niðurstöður rannsókna okkar og sagt frá fyrirtækjunum og afurðum þeirra.

Jakob K. Kristjánsson, Háskóla Íslands og Prokaria ehf.:

Rannsóknir á hveraörverum og nýsköpun

Rannsóknir útlendinga á hveraörverum á Íslandi eiga sér langa sögu en þær fluttust hingað til lands 1982 er Jakob K. Kristjánsson og Guðni Á. Alfredsson hófu rannsóknir við Háskóla Íslands. Þær elfdust mjög með áherslu á hagnýtingu þegar Líftæknideild Iðntæknistofnunar tók til starfa 1985 og Rannsóknarráð ríkisinsins veitti til þeirra stórum styrkjum. Tilurð Efna- og líftæknihússins og stofnun Genís hf 1989 stuðluðu einnig að framgangi þeirra. Með fjármagni frá Rannís, Nordisk Industrifond og ESB tókst að halda krafti í rannsóknum í um 10 ár og voru allt að 10 manns í þeim þegar best lét. Talsverður árangur náðist og sótt var um nokkur einkaleyfi, DNA ensím markaðssett, samningar gerðir við erlend fyrirtæki og tugir vísindagreina birtar. Þetta dugði samt ekki til og hafði hallað mjög undan fæti í ársbyrjun 1998 þegar svo Íslenskar hveraörverur ehf (nú Prokaria ehf) var stofnað, en nú starfa 19 manns hjá fyrirtækinu. Prokaria tengir saman nýjar aðferðir í örverufræði við DNA raðgreiningu, erfðatækni og lífupplýsingafræði til að skima erfðaefni í náttúrulegum örverum með hraðvirkum og sérvirkum hætti. Þannig hyggst fyrirtækið finna fjölda nýrra gena sem tjá fyrir nýjum ensímum og lífvirkum efnum. Saga þessara rannsókna er lærdómsrík um hvernig er að vinna við hagnýtar rannsóknir og nýsköpun við íslenskar aðstæður.

Veggspjöld

Ágústa Guðmundsdóttir og Sigríður Kristjánsdóttir, Háskóli Íslands og Raunvísindastofnun Háskólans:

Hitapol ensímsins euphauserase úr Suðurskauts ljósátu aukið með erfðataekni

Sameindalíkan ensímsins euphauserasa úr Suðurskauts ljósátu, byggt á þrívíddarbyggingu kollagenasa I úr fiðlukrabba, gefur til kynna að þessi tvö ensím séu nánast eins að byggingu enda eru amínósýruraðir þeirra mjög líkar (80% homology). Euphauserase er kuldavirkur serine próteasi með hærri hvötunargetu en sambærileg ensím úr meðalhitakærum lífverum. Einnig hefur euphauserasinn minna hitapol en síðarnefndu ensímin. Euphauserasinn er fjölvirkur í þeim skilningi að hann klýfur peptíðkeðjur með svipuðum hætti og bæði trypsín og chymotrypsín t.d. við amínósýrurnar Phe, Arg og Lys.

Megin markmið okkar með þessu rannsóknaverkefni var að nota erfðataeknilegar aðferðir til að auka stöðugleika euphauserase gagnvart sjálfmeltu (autolysis). Þetta hefði í för með sér að unnt yrði að framleiða ensímafbrigði sem hefðu hærra geymsluþol við herbergishita en náttúrulega ensímið. Við framkölluðum tvær stökkbreytingar á svæði cDNA ensímsins, sem svarar til "sjálfmeltulykkju" í sameindinni þar sem amínósýrunni Phe137 var breytt í Asp eða Glu. Valið á amínósýrum byggðist á því að ensímið klýfur ekki peptíðkeðjur við neikvætt hlaðnar amínósýrur og Phe137 virðist sérlega aðgengileg til rofs samkvæmt sameindalíkaninu. Ensímafbrigðin voru tjáð í *Pichia pastoris* tjáningarkerfi. Báðar stökkbreytingarnar leiddu til aukins stöðugleika ensímsins gagnvart hita og betri heimtur fengust í tjáningu stökkbreyttu afbrigðanna. Niðurstöðurnar gefa til kynna að með stökkbreytingunum hafi tekist að minnka viðkvæmni ensímsins gagnvart sjálfmeltu.

Benedikt I. Ásgeirsson, Ágúst Kvaran og Jón K. F. Geirsson, Raunvísindastofnun Háskólans:

Nýsmíði 1,3-dioxan afleiða og ákvörðun á byggingu þeirra

1,3-dioxan er sexhringur með súrefni í stöðum 1 og 3. 1,3-dioxan afleiður eru mikið notaðar í lífrænum efnasmíðum sérstaklega sem tímabundinn verndarhópur, en þær hafa einnig verið notaðar sem upphafsefni við efnasmíðar á náttúruvefnum og lífvirkum efnum. Raunar hafa sumar 1,3-dioxan afleiður sýnt líffræðilega virkni og nýlega (1999) birtist grein sem lýsir 1,3-dioxan afleiðum sem hindra fyrir Thromboxane A₂ móttaka.

Til að auka notagildi 1,3-dioxana er nauðsynlegt að þekkja nákvæma byggingu þeirra og þá þætti sem hafa áhrif á lögun þeirra. Á Raunvísindastofnun Háskólans hafa verið smíðaðar fjórar afleiður, þ.e. 2,2,5,5-tetramethyl-1,3-dioxan, 2-phenyl-5,5-dimethyl-1,3-dioxan, 2,5-diphenyl-5-methyl-1,3-dioxan og 2,5-diphenyl-2,5-dimethyl-1,3-dioxan. Í þeim tilgangi að finna tengsl milli mæligilda og sameindalögunar er búið að herma ¹H NMR róf þessara efna með hermílikani í tölvu. Slík hermun gefur nákvæmari upplýsingar um hliðrunargildi einstakra kjarna og kúplingsfasta á milli þeirra. Sagt verður frá þessum niðurstöðum og rætt um tengsl milli NMR mæligilda og lögunar 1,3-dioxana.

Benedikt G. Waage, Victor Huasheng Wang og Ágúst Kvaran, Raunvísindastofnun Háskólans, Háskóli Íslands:

Þriggja ljóseinda gleypni vetnishalíða

Orkutílfærslur í efni samfara ljósgleypni eru háðar fjölda ljóseinda sem gleypast samtímis. Fyrir vikið er útlit litrófa sameinda háð ljósstyrk. Litróf sem tilorðin eru vegna gleypni mismargra ljóseinda geta því falið í sér ólíkar upplýsingar fyrir viðkomandi sameindir.

Í þessari kynningu verður greint frá mismun á gleypnirófum vetnishalíða eftir fjölda ljóseinda sem gleypast. Áhersla verður lögð á að sýna og skýra samtíma ljósgleypni þriggja ljóseinda og hvernig unnt er að nota viðkomandi litróf til að afla upplýsinga um viðkomandi sameindir. Greint verður frá uppgötvunum á nýjum orkuástöndum sameindarinnar HBr sem einungis hafa fundist með mælingum á samtíma gleypni þriggja ljóseinda.

Bjarni Ásgeirsson, Raunvísindastofnun Háskóla Íslands:

Kuldavirkni alkalísks fosfatasa úr Atlantshafsborski endurspeglast í lágum stöðugleika ensímsins.

Aðlögun alkalísks fosfatasa (AP) úr þorski að lágum líkamshita dýrsins endurspeglast í hærri hvötunargetu ensímsins og lágum stöðugleika við hitun. Stöðugleiki ensímsins var kannaður nánar, með áherslu á að kanna sundrun og afmyndun ensímeininga. AP er samsettur úr tveimur eins fjölpeptíðeiningum, og eru stakar einingar óvirkar. Flúrljómunarmælingar, hlaupsíun eða virknimælingar voru nýttar til að greina breytingar í ástandi ensímsins við síhækkandi styrk guanidíníum klóríðs eða urea. Sundrun (dissociation) eininga AP úr þorski var greinilega snemmbúnari atburður en afmyndun þeirra. Til samanburðar voru svipaðar mælingar gerðar með AP úr kálfi, en í því tilfalli voru sundrun og afmyndun ekki aðgreinanlegir atburðir. Áætlað ΔG fyrir aðgreiningu eininga í AP þorsks var 8,3 kcal/mól, og stöðugleiki eininga var áætlaður 2,2 kcal/mól.

Heildarstöðugleiki AP úr þorski reiknast þá 12,7 kcal/mól í samanburði við 17,3 kcal/mól fyrir AP kálfs. Þannig sést, að myndun tvennda (dimers) er stór þáttur í viðhaldi nauðsynlegs stöðugleika fyrir AP þorsks. Áhrif fosfats reyndust vera þau, að auðvelda sundrun tvennda, en stuðla að stöðugleika einangraðra einþáttunga (monomers). AP þorsks hefur lækkaða sækni í fosfat, en losun þess er hraðatakmarkandi í hvarfgangi ensímsins. Minni tengsl á skilum milli eininga í tvenndum, gera tímabundnar hreyfingar í byggingu líklega auðveldari, sem aftur auðveldar hraðari losun fosfats. Þar með er stuðlað að hárrí hverfitölu (turnover number) ensímsins.

Emelía Eiríksdóttir og Jón K. F. Geirsson, Raunvísindastofnun Háskólans:

Rúmvönd myndun hexahydronaftalín afleiða

Árið 1993 urðu til fyrir tilviljun bicyclo[3.3.1]nónan-3-ón afleiður við rannsóknir í lífrænni efnafræði við Raunvísindastofnun Háskólans. Síðan þá hafa efnin verið markvisst smíðuð því þau hafa sýnt töluverða virkni gegn krabbameinsfrumum, t.d. blöðruhálskirtils- og brjóstakrabbameinsfrumum.

Bicyclo[3.3.1]nónan-3-ón afleiðurnar myndast við basahvataða Michael álagningu milli dimethyl 1,3-acetondikarboxylats og a,b-ómettaðs aldehyðs en einnig hefur tekist að stýra hvarfinu inn á myndun cyclohexanón afleiða og hexahydronaftalín afleiða.

Bicyclo afleiðurnar hafa sýnt mesta virkni gegn krabbameinsfrumum þegar ýmsir aromatískir hringir tengjast bicyclo einingunni beint sem sethópur og því hafa nokkrar líffræðilega áhugaverðar hliðarkeðjur verið hengdar inn á bicycloefni með sethópinn p-hydroxyhenyl. Einnig hefur verið reynt að stækka annan sexhring bicyclo afleiðu í átthring og fá þannig hluta af taxan afleiðu en kolefnisgrind taxans samanstendur af þremur samtengdum hringjum, þ.e. sex-, átt- og sexhring. Til taxan efna telst t.d. efnið taxól sem hefur reynst æxlishefjandi en hentar illa sem lyf þar sem það er torleyst í vatni og mjög eitrað. Hringstækkanirnar hafa enn ekki borið árangur en þó hafa myndast óvænt tvö ný efni við þessar prófanir sem voru auðkennd með NMR tækni og bygging

þeirra staðfest með kristalstrúktúrgreiningu. Efnin reyndust vera hexahydronaphthalín afleiður og verður hvarfgangur þeirra útlistaður.

Arnar Halldórsson og Guðmundur G. Haraldsson, Raunvísindastofnun Háskólans:

Stjórnun á staðvendni með lípösum. Efnasmíðar á stöðubundnum þríglyseríðum.

Vísbendingar eru um að staðsetning ómega-3 fjólómattaðra fitusýra, t.d. eikósapenta-ensýru (EPA) og dókósahehexaensýru (DHA), í stöðum þríglyseríða lýsis kunni að hafa áhrif á stöðugleika þeirra gagnvart oxun og þránun. Til að varpa frekara ljósi á þetta var ákveðið að hanna og smíða tvær tegundir líkanefna: Annars vegar sameindir stöðubundinna þríglyseríða með hreinu EPA eða DHA í miðstöðu, en mettaðri sterínsýru í endastöðum; hins vegar þríglyseríðsameindir með EPA eða DHA í annarri endastöðu, en sterínsýru í miðstöðu og hinni endastöðunni. Fyrri afleiðurnar voru smíðaðar í tveimur skrefum með samspili hefðbundinna efnasmíðaaðferða og líf-lífrænna aðferða með ensímum. Í fyrra skrefinu fékkst 1,3-dísteroylglyseról í góðum heimtum (74 %) með esterun á glyseróli í eter, þar sem tvö jafngildi af sterínsýru voru notuð í viðurvist kísilgels, fyrir tilstilli kyrrsetts lípasa úr *Rhizomucor miehei*. Í kjölfarið fylgdi hefðbundin esterun í miðstöðu á bæði hreinu EPA og DHA, sem byggði á notkun EDC (1-3(dímetylamínóprópyl)-3-etylkarbódíímíð) sem asyl miðils í díklórmetani í viðurvist DMAP (dímetylamínópyridíns), í ágætum heimtum (>90 %) fyrir bæði EPA og DHA afleiðurnar. Síðari afleiðutegundin var smíðuð í tveimur ensímskrefum. Hið fyrra fól í sér smíði á þrísteríni í mjög háum heimtum (88 %) með beinni esterun á glyseróli með þremur jafngildum af sterínsýru, án leysis, undir lofttæmi við 70-75 °C, fyrir tilstilli kyrrsetts *Candida antarctica* lípasa. Myndefnið var síðan meðhöndlað í sýrurófi með tveimur jafngildum af EPA eða DHA, án leysis við 70-75 °C eða í tólúeni við 40 °C, með fyrrgreindum *Rhizomucor miehei* lípasa. Hin endastöðubundnu EPA- og DHA þríglyseríð fengust í viðunandi heimtum (30-35 % eftir kristöllum úr hexani). Bygging allra myndefnanna var að fullu sannkend með hágæða ¹H og ¹³C NMR greiningu, IR greiningu og frumefnagreiningu. ¹³C NMR tæknin nýttist ágætlega til staðfestingar á staðvísri stjórnun efnahvarfanna. Bráðabirgðamælingar á stöðugleika þessara afleiða gagnvart oxun, sem voru aðeins framkvæmdar á EPA afleiðunum, benda til að EPA staðsett í miðstöðu sé vissulega stöðugra en í endastöðu.

Helga Halldórsdóttir, Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins:

PAH efni í lífríki sjávar við Ísland

Fjölhringja arómatísk kolvatnsefni er hópur efnasambanda sem eru samsett úr tveimur eða fleiri kolefnishringjum. Þessi efni er að finna í kolum, olíu og olíuafurðum en þau myndast einnig við bruna eða mikla hitun lífrænna efna. Tilraunir á dýrum sýna að mörg þessara efna eru krabbameinsvaldandi. Lítið er til af upplýsingum um PAH efni í náttúru Íslands og sáralítið er vitað um tilvist þeirra í lífríki sjávar hér við land. Í þessu mastersverkefni verða PAH efni mæld við tvær líklegar mengunaruppsprettur, skolphreinsiútrás og málmiðnaðarsvæði. Efnin verða mæld í kræklingi, *Mytilus edulis*, sem komið er fyrir í búrum á 1m og 5m dýpi í sjónum fyrir utan þessi svæði. Ísland er aðili að vöktunarverkefnum þar sem skylt er að fylgjast með styrk PAH efnum í lífríki sjávar og er þessi vinna fyrsta skref til að uppfylla þær kröfur. Markmiðið er að framfylgja vöktunarskyldum Íslands sem kveða á um að 23 efni séu mæld. Niðurbrot fer fram með KOH og útdráttur með eter/hexan blöndu. Efnin verða aðgreind með HPLC tækni og mæld með flúrskinsnema. Auk þess er ætlunin að efnin verði mæld með flúrskini án aðgreiningar, með þyngdarmælingum og IR tækni.

Hermann Þórðarson, Iðntæknistofnun:

Ásgeir Torfason, fyrsti íslenski efnafræðingurinn/efnaverkfræðingurinn

Ásgeir Torfason, f. 8 maí, 1871, sonur Torfa Bjarnasonar og Guðlaugar Zakaríasdóttur í Ólafsdal, þar sem faðir hans rak landbúnaðarskóla, lauk prófi í efnaverkfræði við Verkfræðiháskólann í Kaupmannahöfn 1903, var forstöðumaður Efnarannsóknastofu Íslands, skólastjóri Iðnskólans og kenndi við Læknadeildina og Háskóla Íslands (efnafræði) sem og við Barnaskóla Reykjavíkur. Hann átti þrjú börn með konu sinni Önnu Louise Ámundsdóttur en sonur sem hann átti fyrir ólst upp hjá foreldrum hans í Ólafsdal.

Starfaði fyrst við mórannsóknir í Noregi og á Jótlandi, en heim kominn rannsakaði hann mó frá ýmsum stöðum hér á landi, vatn úr Elliðaám og Gvendarbrunnum vegna fyrirhugaðrar vatnsveitu, íslenska sæþörungum, melkorn, jarðveg og hey, fóður, eldsneyti og ýmis fleiri efni. Stofnandi Verkfræðingafélags Íslands og fleiri félaga.

Ásgeir lést fyrir aldur fram þann 16. september, 1916 og er grafinn í Hólavallakirkjugarði í Reykjavík.

Hörður Filippusson, Lýður S. Erlendsson, Christopher R. Lowe, Raunvísindastofnun Háskólans:

Lífhermin hönnun og smíði griphópa fyrir elastasa og notkun þeirra við hreinvinnslu ensímanna

Lífherminn griphópur með lágan mólmassa sem bundið getur ensímið elastasa hefur verið hannaður og smíðaður. Hönnun griphópsins byggðist á því að líkja eftir tengingu náttúrulegs griphóps, sem finnst í vefjum kalkúna, við elastasa, og var byggt á þrívíddarmynd komplex ensíms og hindra, sem fundin hefur verið með aðstoð röntgenkristallatakni. Slembismíð á föstum fasa var beitt til að smíða tólf afbrigði af grunngerð griphópsins og var byggt á efnafræði þríazíns til að safna saman mismunandi efnahópum sem griphópurinn er gerður af. Griphópasafnið var skimað með tilliti til hæfni til að binda elastasa og trypsin, og voru tveir griphópar rannsakaðir nánar: Griphópur C4/6 (2-alanyl-alanyl-4-tryptamino-6-(a-lysyl)-s-triazine reyndist binda svínabriselastasa en ekki trypsin, með klofnunarfasta 6×10^{-5} M og bindigetu 21 mg elastasa á hvert mg gripefnis. Griphópurinn C4/5 (2-alanyl-alanyl-4-tyramino-6-(a-lysyl)-s-triazine) reyndist best til bindingar elastasa úr þorski og var notaður til að hreinvinna ensímið úr útdráttarlausn úr skúflöngum þorsks. Griphópur C4/6 var smíðaur í lausn og bygging hans staðfest með $^1\text{H-NMR}$.

Ingvar Árnason, Raunvísindastofnun Háskólans:

Lesið í ^{13}C og ^{29}Si NMR róf af alkylafleiðum 1,3,5-trisilacyclohexans

Fimm raðir af Si-setnum alkylafleiðum hringkerfisins 1,3,5-trisilacyclohexan (alkýl = Me, Et, i-Pr og t-Bu) hafa verið smíðaðar og NMR róf þeirra skráð. Greining á hliðrunum ^{13}C og ^{29}Si kjarna þeirra staðfestir fyrri tilgátur um að t-Bu hópur í áslægri stöðu á hringnum geri þá stólmynd hringsins óhagstæða og valdi því að snúin bátsmynd verður hagkvæmari. Stellingajafnvægi hringkerfisins gerir það að verkum að ekki er unnt að meta áhrif hvers sethóps á hliðrunargildi ^{13}C og ^{29}Si kjarnanna (Substituent-induced Chemical Shift, SCS hrif). Með markvissri smíði á afleiðum með blönduðum sethópum tókst að meta SCS hrif sethópanna Me, Et og i-Pr bæði í þverlægri og áslægri stöðu og t-Bu í þverlægri stöðu á ^{13}C kjarna í β og δ stöðu og ^{29}Si kjarna í α og γ stöðu við sethópinn. SCS hrif sethópanna eru borin saman við tilsvareandi gildi fyrir cyclohexan hringkerfið.

Jón K. F. Geirsson, Raunvísindastofnun Háskólans:

Efnasmíði og lífvirkni bicyclo[3.3.1]nonan-3-óna

Efnahvarf milli α,β -ómettaðra aldehyða og dimethyl acetondikarboxylats, við hlutlaus eða basísk hvarfskilyrði, myndar bicyclo[3.3.1]nonan-3-óna á rúmvandann hátt. Efnahvarfið er mjög háð hvarfskilyrðum, breyting á basa, leysi eða hitastigi gefur önnur og ólík myndefni.

Krabbameinsstofnun Bandaríkjanna (NCI) mældi virkni nokkurra af þessum bicyclísku myndefnum og sýndu efnin talsverða virkni gegn krabbameinsfrumum. Í framhaldi af þeim niðurstöðum var efnasmíðin endurbætt og fjöldi nýrra efna smíðaður og sendur til mælinga.

Talið var mögulegt að auka mætti virkni þessara efna með því að tengja líffræðilega áhugaverðar hliðarkeðjur inn á bicyclo eininguna. Til þeirra tilrauna voru valdar afleiður af cinnamic sýru, fyrst og fremst vegna þess að sú eining kemur fyrir í fjölmörgum líffræðilega virkum efnasamböndum og

náttúruefnum. Tekist hefur að tengja fjölmargar afleiður af cinnamic sýru inn á bicyclo efnin og þessi nýju efni hafa síðan verið send til NCI til mælinga.

Greint verður frá myndun bicyclo[3.3.1]nonan-3-óna og afleiða þeirra og niðurstöður virknimælinganna ræddar.

Magnús Hlynur Haraldsson, Örn Helgason og Már Björgvinsson, Raunvísindastofnun Háskólans:

Fjölsetnar ferrócen-afleiður [Δ^5 -C₅Me₄(*p*-C₆H₄Y)]₂Fe:

Efnasmíðar, ⁵⁷Fe Mössbauer mælingar og kristalbyggingar

Við Raunvísindastofnun hefur verið smíðuð röð ferrócen-afleiða, Cp^{xpy}₂Fe, þar sem Cp^{xpy} er rúmfrekur C₅Me₄(*p*-C₆H₄Y)-tengill (Me = CH₃) með mismunandi Y-sethóp (y): H (h), Me (m), OMe (om), Cl (cl), F (f) eða CF₃ (cf). ⁵⁷Fe Mössbauer einpólshliðrun (I.S.) og fjórþólsklofnun (Q.S.) efnanna eru þær sömu, eða I.S. = 0,52-0,53 mms⁻¹ (80 K) og Q.S. = 2,37-2,39 mms⁻¹, nema hjá Cp^{xph}₂Fe en þar mælist fjórþólsklofnunin 2,49 mms⁻¹. Einkristalgreining á efnunum Cp^{xph}₂Fe, Cp^{xpom}₂Fe og Cp^{xpcl}₂Fe, sýna að C₆H₄Y-hringirnir eru sömu megin í hverri sameind en hinsvegar koma tvær mismunandi stellingar fram. Í Cp^{xph}₂Fe sameind er stellingin T-laga eða hornrétt, þ.e. að jaðar annars phenýl-hringsins liggur að fleti hins. Samsvarandi hringir í sameindum Cp^{xpom}₂Fe og Cp^{xpcl}₂Fe eru hins vegar samsíða, en þó ekki beint yfir hvor öðrum. Stellingarnar tvær eru dæmigerðar fyrir svonefndar π - π verkanir á milli arómatískra kerfa. Nokkur bjögun er á samloku Cp^{xph}₂Fe vegna hornréttu π - π verkunarinnar og ekki er ólíklegt að hún valdi hærri fjórþólsklofnun hjá efninu.

Kolbrún S. Kristjánsdóttir, Sigríður Ólafsdóttir og Jón Bragi Bjarnason,
Raunvísindastofnun Háskólans:

Hreinsun og eiginleikar breiðvirks próteasa úr Suðurskautsljósátu (*Euphausia superba*).

Euphauserasi, breiðvirkur próteasi úr Suðurskautsljósátu (*Euphausia superba*), var hreinsaður á DEAE jónaskiptaskilju, aminophenylboronat sértækri skilju og MonoQ katjónaskiptaskilju. Ensímið mældist um 28 ± 1 kDa að stærð í SDS rafdrætti og jafnhleðslustig < 3 . Euphauserasi gat rofið kollagen í náttúrulegri myndbyggingu en sérvirkni ensímsins svipaði mest til trypsins þó það gæti einnig rofið hvarfefni sem sérhönnuð eru fyrir chymotrypsin og elastasa. Kjörsýrustig ensímsins mældist mismunandi fyrir ólíkar gerðir hvarfefna, fyrir succinyl-AAPF-p-nitroanilíð var kjörsýrustigið 7,2 en þegar succinyl-AAPR-p-nitroanilíð var notað fékkst hámarksvirkni á bilinu pH 8,0 - 10,0. Stöðugleiki sem fall af sýrustigi var mældur eftir einnar klst stöðu annars vegar og 24 klst hins vegar. Hámarksstöðugleiki mældist við pH 6,0 - 6,5 en hann féll hratt við lægri pH gildi en hægur við hærri gildi, þannig að 50% virknileif mældist eftir 24 klst við pH 5,0 og pH 9,0. Sjálfmelta var greinileg þegar ensíminu var leyft að standa við sýrustig þar sem virkni var mikil. Sjálfmeltan greindist bæði sem viknitap og breytingar á mynstri toppa sem komu af MonoQ jónaskiptaskilju. Sérvirkni euphauserasa og raðir á aminóenda benda til að hann flokkist í brachyurin undirflokk serín próteasa.

Egill Briem, Sigríður Ólafsdóttir, Jay W. Fox* og Jón Bragi Bjarnason,
Raunvísindastofnun Háskólans og *Department of Microbiology, University of Virginia,
Charlottesville, Virginia.

Hreinsun og eiginleikar fjögurra trypsin-líkra próteasa úr þorski (*Gadus morhua*).

Áður hefur verið lýst hreinsun og eiginleikum þriggja afbrigða af trypsíni úr skúflöngum þorsks, sem kölluð voru trypsín I-III (1). Fjögur trypsínaafbrigði til viðbótar, sem finnast í mun minna magni í skúflöngunum en afbrigði I-III, voru hreinsuð á DEAE-jónaskiptaskilju og p-aminóbenezamidín sérvirkri skilju. Afbrigðin fjögur voru aðskilin á MonoQ jónaskiptaskilju og nefnd trypsin IVa-d. Öll afbrigðin rufu hvarfefnið carbobenzoxy-GPR-p-nitroanilíð. Afbrigðin fjögur voru fremur óstöðug og í 100 mM Tris, 5 mM CaCl₂, pH 8,2, 25°C, tapadist um helmingur virkninnar á 2-3 dögum. Stöðugasta afbrigðið, trypsín IVb, var rannsakað frekar. Trypsín IVb rauf hvarfefni sem höfðu argínín í stöðu P1 en ekki hvarfefni sem höfðu fenylalanín, leusín eða alanín í þeirri stöðu. KM ensímsins lækkaði og hverfitala (kcat) hækkaði með aukinni lengd peptíðhvarfefnis. Áhrif hitastigs á virkni og stöðugleika voru svipuð og fundist hafa fyrir trypsín I-III, en trypsín IVb var stöðugra við basísk sýrustig og hafði breiðara kjörsýrustig en trypsín I-III. Edman raðgreining á trypsíni IV sýndi að N-enda röð allra afbrigðanna fjögurra var eins og DNA röðin sem kölluð hefur verið trypsin X (2). Innri raðir afbrigða a, c og d sýndu skyldleika við DNA raðir bæði trypsíns X og I (2).

(1) Ásgeirsson, B., Fox, J.W. and Bjarnason, J.B. (1989) Eur.J.Biochem, 180, 85-94.

(2) Gudmundsdóttir, A., Gudmundsdóttir, E., Oskarsson, S., Bjarnason, J.B., Eakin, A.E. and Craik, C.S. (1993) Eur.J.Biochem., 217, 1091-1097.