

MÉRŐSZALAGGAL A FEHÉRJÉK VILÁGÁBAN

Bugyi Beáta

PhD, egyetemi adjunktus

Hild Gábor

PhD, egyetemi docens

Lukács András

PhD, egyetemi adjunktus

Nyitrai Miklós

az MTA doktora, egyetemi tanár
miklos.nyitrai@aok.pte.hu

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Biofizikai Intézet

Bevezetés

A fehérjék az élő rendszerek alapvető építőkövei, melyek megtalálhatóak a sejt minden szerkezeti egységében, és részt vesznek az összes, a sejtekben lejátszódó folyamatban. Ennek felismerése természetes módon vezetett el a fehérjevizsgálati módszerek változatos repertoárjának kialakulásához. A napjainkban rutinszerűen alkalmazott eljárások kidolgozása hosszú évtizedek intenzív kémiai és fizikai kutatásain alapul. A ma rendelkezésünkre álló módszerek a szerveződési szintek hatalmas léptékeit ölelik át: egyetlen fehérjemolekula egyedi tulajdonságaitól kezdve a sejteken keresztül szövetek és szervek szerkezeti és funkcionális sajátosságait írhatjuk le nagy részletességgel. Így az elsőre kifejezetten távolinak tetsző tudományágak és gondolatkörök néha meglepően közel kerülnek egymáshoz a megfelelő logikai társításokon, szakmai kapcsolódási pontokon keresztül. Nem véletlen, hogy Szent-Györgyi Albert is a következőket mondta egy beszélgetésben: „*a nehezen érthető kvantummechanikai számítások és a*

betegégyak között talán nem is olyan nagy a távolság, mint ahogy azt eddig hittük”.

A biofizika tárgykörébe számos olyan modernkori technikai fejlesztés, felfedezés tartozik, amelynek a hasznát ma már a gyakorlati életben is tapasztalhatjuk. Elég például csak a modern orvostudomány képpalkotó eljárásaira gondolnunk. A ma már rutinszerűen alkalmazott – például radioaktív izotópok alkalmazására épülő – képpalkotó módszerek (PET, gamma-kamera) alapjai, működési elvei és kiértékelési módszerei túlnyomó részben a 20. század elejétől végbement technikai és tudományos fejlődésnek köszönhetően valósulhattak meg. Ugyancsak a fizika 20. századi vívmányai, az alap kutatások eredményei kellettek az orvoslásban oly sokszor és eredményesen alkalmazott MRI-módszer kialakulásához. Bár ebben az esetben a korábbi elektromágneses kutatások fontosságát sem lehet elvitatni.

A jelen kor biológiai kutatásaiban meghatározó szerepet töltenek be a fehérjék szerkezetének, funkciójának és szabályozásának megértésére irányuló vizsgálatok. Ezek a

vizsgálatok sok esetben még az alap kutatás fázisában járnak. A múltban végbement folyamatok és az előttünk álló példák ugyanakkor megmutatták, hogy esetenként az alap kutatások nagyon gyorsan és eredményesen fordulhatnak át alkalmazott kutatásokba. A következő néhány bekezdésben a jelenlegi alap kutatásoknak egy speciális és biztató vonulatát, a fehérjék megismerésére irányuló fluoreszcencia alkalmazások egy jellegzetes irányát és módszertanát mutatjuk be röviden.

Molekuláris vonalzó a fehérjék szerkezetének és funkciójának vizsgálatában

Az alapelvek • Távolságot olyan paraméter vagy jelenség nyomon követésével lehet mérni, ami arányos a távolság nagyságával, és érzékeny a megváltozására. A fehérjék mérete tipikusan a néhány nanométer tartományba esik, ez a méter milliárdod része. Érthető tehát, hogy hosszú ideig komoly problémát jelentett az ilyen léptékű távolságok mérésére alkalmas paraméter megtalálása. Míg nem a 20. század közepén megjelent egy gondolat, amely megalapozta ezeknek a méréseknek a megvalósulását. A gondolat lényege a következő.

Bizonyos tulajdonságokkal rendelkező molekulák között, ilyenek például a fluoreszcens molekulák – a későbbiekben fluorofórok – is, energiaátadás, energiatranszfer jöhet létre. Ennek egyik speciális módja, amikor a két molekula elektromos kölcsönhatásokon keresztül van egymással kapcsolatban. Az energiát szolgáltató molekula a donor, az energiát átvevő molekula az akceptor. Megfelelő egyszerűsítések után a két molekula leírható úgy, mint egy egymástól adott távolságban lévő pozitív és negatív töltés egysége, egy ún. dipólus. A donor és az akceptor a dipólus rezgéseiben, illetve a rezgések megváltozásán keresztül érzékelik a környezetüket. Ha a két

molekula elég közel kerül egymáshoz, a két dipólus rezgése összekapcsolódnak, ekkor energiatranszfer jön létre. A folyamatot Theodor Förster munkásságának tiszteletére (lásd a továbbiakban: *FRET-történelem*) Förster-típusú rezonancia energiatranszfernek, röviden FRET-nek nevezik.

A biológiai kutatások szerencséje, hogy az energiaátadáshoz a két molekulának 1–10 nm távolságban kell lennie egymástól. Ez a fizikai korlát egyfelől ugyan behatárolja az energiatranszfer alkalmazási lehetőségeit, másfelől viszont élesíti, optimalizálja a vonatkozó módszereket erre a viszonylag szűk, de a fehérjék méreteit tekintve közel ideálisnak mondható távolságtartományra.

A fenti gondolatra épülve kikristályosodtak egy olyan eljárásnak az alapjai, amely lehetővé teszi a fehérjemolekulák közötti vagy akár fehérjemolekulákon belüli távolságok mérését. A módszer alkalmazása feltételezi, hogy meg tudjuk mérni a fluoreszcens donor-molekula fényének erősségét, azaz a fluoreszcenciaintenzitást akkor, amikor nincs a közelében akceptor, illetve abban az esetben is, amikor az akceptor egy adott távolságban helyezkedik el tőle. A két intenzitásérték eltérése, aránya az energia átadásának hatékonyságát tükrözi, ami pedig erősen függ a két molekula távolságától. Így viszonylag egyszerűen megmérhető adatokból kiszámolhatjuk a két molekula közötti távolságot. Mindezt a néhány nanométer tartományon!

Fontos ugyanakkor megjegyeznünk, hogy a fenti leírásban nem ismertettük azokat a további megfontolásokat, amelyeket az alkalmazó kutatóknak végig kell gondolnia ahhoz, hogy hiteles méréseket tudjon megvalósítani. Ezekkel kapcsolatban a szakirodalom számos támpontot nyújt (Valeur 2002; Lakowicz 2006).

FRET-történelem

Bár a fluoreszcencia rezonancia energiatranszfer jelenségének pontos leírása Theodor Förster nevéhez kapcsolódik, az első kutató, aki felfigyelt a jelenségre, Jean Perrin volt. Ezt maga Förster is megemlíttette korszakalkotó munkájában. Jean Perrin, aki 1926-ban kapott fizikai Nobel-díjat, 1925-ben értekezett először arról, hogy az elsődlegesen gerjesztett molekulák és környezetük között közvetlen elektrodinamikai kölcsönhatás lép fel. Ezt a megfigyelését a klasszikus fizika keretein belül tárgyalta, és néhány évvel később, a harmincas évek elején éppen fia, Francis Perrin látott neki a jelenség kvantummechanikai leírásának.

Az energiatranszfer – atomok között – mellesleg már korábbról ismert fogalom volt, James Franck és Gustav Ludwig Hertz a róluk elnevezett, méltán híres kísérletükben bemutatták, hogy gyors elektronok és lassan mozgó atomok ütközése során az atomok gerjesztett állapotba kerülnek. Ezt a jelenséget nevezték el *elsőrendű ütközésnek*. Az inverz folyamatot, amelynek során lassú elektronok ütköznek gerjesztett atomokkal, *másodrendű ütközésnek* nevezték el, amelynek során sugárzás nélküli energiaátadásra kerül sor. James Franck tovább vizsgálta az említett folyamatot, és arra az eredményre jutott, hogy előfordulhat olyan eset, hogy egy gerjesztett atom egy gerjesztetlen atommal ütközve ez utóbbinak adja át energiáját, amely által az gerjesztett állapotba kerül. Egy elegáns kísérletben, James Franck és Günther Cario 1922-ben higany- és talliumgőz keverékében gerjesztette a higanyatomokat – a higany abszorpciója 254 nm-en figyelhető meg –, és sikerült megfigyelnie a tallium emisszióját 535 nm-en, ez már egyértelműen arra utalt, hogy a gerjesz-

tett higany átadta az energiáját a talliumnak. Butler és Josephy állapította meg nem sokkal később, hogy a transzfer akkor valósul meg nagy valószínűséggel, amikor a két elem energiaátmenete nagyon közel esik egymáshoz. Innen a *rezonancia energiatranszfer elnevezés*.

Hartmut Kallmann és Fritz London 1928-ban már kvantummechanikai megfontolások alapján tárgyalta a rezonancia energiatranszfer atomok között. A dipól–dipól kölcsönhatás és az R_0 paraméter – az a távolság, ahol az energiatranszfer hatásfoka 50% – fogalma az ő munkájukban jelent meg először. Mindezen eredmények ismeretében Jean Perrin a húszas évek végén arra következtetett, hogy az atomoknál gázfázisban megfigyelt jelenség molekulák esetében is érvényes. Számos alapkísérlet elvégzett, azt is megfigyelte például, hogy a fluorofórok kvantumhatásfoka a koncentráció növelésével csökken. Vagyis már igen korán felfigyelt arra, hogy a környező fluorofórok nem tartják fenn a fluoreszcenciát, hanem éppen ellenkezőleg, kioltják. Alig néhány évvel később Francis Perrin figyelte meg, hogy a koncentráció növelése a fluoreszcencia depolarizációjával párosul, amelyet ő már az energiatranszfernek tulajdonított. 1932-ben megírta híres cikkét az azonos típusú molekulák között fellépő energiatranszfer kvantummechanikai elméletéről, amelyben kis oszcillátorokként modellezte a fluoreszkáló molekulákat.

A molekulák közötti energiatranszfer elméletét végül Theodor Förster tisztázta két híres – 1946-ban és 1948-ban megjelent – cikkében (Förster 1946; Förster 1948). Förster ekkor már a göttingeni Max Planck Kutatóintézet fizikai-kémia tanszékét vezette, és pár év publikálási szünet után összegezni szeretne volna a szerves molekulák abszorpciójáról és

fluoreszcencia emissziójáról szóló megfigyeléseit. Az energiatranszfer jelensége a fotoszintézisben betöltött szerepe miatt keltette fel érdeklődését; tisztában volt Jean és Francis Perrin munkáival, és tudta, hogy az energia a molekula átmérőjénél nagyobb távolságokon is átadódhat. Förster végül korrigálta a Francis Perrin elméletében található hibákat; Perrin munkája ugyanis a kísérletileg megfigyelttel szemben 150–200 Å-re (1 Å 0,1 nm-nek felel meg) becsülte azt a távolságot, amelyen belül az energiatranszfer bekövetkezik. Förster azt is felismerte, hogy Perrinék feltételezésével szemben a donor abszorpció, illetve az akceptor emissziós spektruma nem kell, hogy tökéletesen átfedjen az energiatranszfer bekövetkezéséhez, és bevezette az átfedési integrál fogalmát. Förster végül megfejtette az energiatranszfer távolságfüggését, és leírta, hogy az energiatranszfer hatásfoka a donor és az akceptor molekula közötti távolság hatodik hatványával csökken.

A FRET biológiai alkalmazásának lehetőségei

A FRET-módszer szépsége igazán a biológiai alkalmazások kapcsán rajzolódik ki. A következőkben néhány, a saját kutatásainkból kiragadott példán keresztül mutatjuk be a FRET módszerében rejlő lehetőségeket.

Fehérjén belüli pozíció meghatározása: miozin és ANN

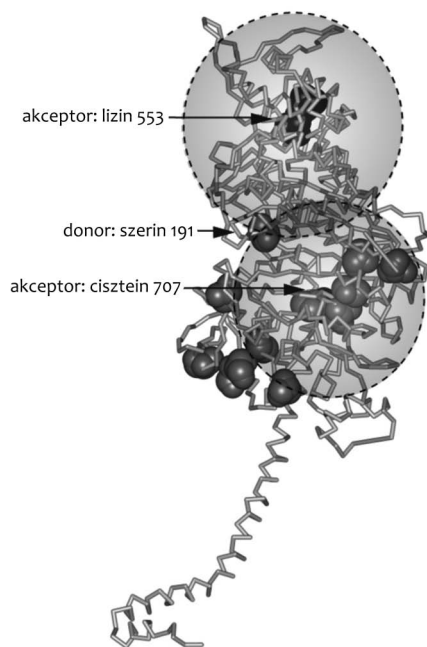
A miozin fehérjecsald egyes tagjai felelősek többek között azért, hogy az izmainkat képesek vagyunk szükség esetén kontrakcióra készíteni. A miozinok vizsgálatában kitüntetett szerepet kaptak a fluoreszcencia spektroszkópiai eljárások. Ezek alkalmazásának feltevése, hogy a fehérjében vagy a fehérjéhez kapcsolódva rendelkezésre álljon egy fluorofór molekula. A fluorofór tulajdonságainak vizs-

gálatán keresztül jobban megismerhetjük a fehérje működését is. A fluorofórok kémiai úton is kapcsolhatók a fehérjékhez, ezt fluoreszcens jelölésnek nevezzük. A jelölési eljárások kidolgozása gyakran hosszú folyamat. Elsőként meg kell találni a módját annak, hogy a fluorofór kémiailag kötődjön a fehérje egy – lehetőleg egyedi és specifikus – pontjához. Majd meg kell határozni a fehérjéhez való kapcsolódás helyét, végül ellenőrizni kell, hogy a fluorofór befolyásolja-e a fehérje funkcionális tulajdonságait.

Egy korábbi munkánkban a FRET módszerét használtuk egy fluorofór pozíciójának meghatározására egy fehérjemolekulán belül. Egy japán kutatócsoport ugyanis egy speciális fluorofórt (ANN) kapcsolt a miozinhoz, annak is a gömbszerű szerkezetet kialakító, ún. feji részéhez (Hiratsuka 1989). A fluorofór kémiai tulajdonságaiból tudták, hogy a miozin fejen belül az csak szerin aminosavakhoz kapcsolódhatott. Vizsgálataik azt is megmutatták, hogy az ANN a miozinmolekulán belül csak egyetlen szerinhez kapcsolódott, azaz a jelölés specifikus volt. Azt azonban nem tudták megállapítani, hogy a miozin fej tizenkét szerinjé közül melyik kötötte meg a fluorofórt. Márpedig – mint fentebb tárgyaltuk – ahhoz, hogy a molekula belső szerkezetét leíró vizsgálatokban ki tudjuk használni a jelölés előnyeit, tudnunk kell, hogy a fluorofór pontosan hova kapcsolódik a fehérjén belül.

Ekkoriban a kutatócsoportunk is hasonló jellegű biológiai kérdések megválaszolásán dolgozott, így célul tűztük ki az ANN miozinban elfoglalt helyének meghatározását. Ehhez a FRET módszerét és a mindennapi életben is ismert és használatos háromszögletes helyzetmeghatározás logikáját használtuk. Ennek lényege az, hogy a Föld felszínén –

azaz a hétköznapi léptékek mellett síkban – egy ismeretlen pont helyét úgy határozzuk meg, hogy ismerjük három másik, ismert ponttól való távolságát. Ekkor a három ismert pontból a távolságokkal mint sugarakkal köröket rajzolva az ismeretlen pont helye a három kör metszéspontjában lesz. Amennyiben az ismeretlen pontnak csak két másik ponttól való távolsága ismert, úgy a két kör metszeteként általánosságban kapható két



1. ábra • Az ANN-miozin feji részéhez (S1-hez) való kötési helyének meghatározása a FRET-technika segítségével (miozin S1 PDB azonosító: 2MYS). A mérések során fluoreszcens donorként az ANN; fluoreszcens akceptorként a 707-es ciszteinhez kötött IAF vagy az 553-as lizinhez kapcsolt FHS szerepelt. A mért donor–akceptor távolság ANN-IAF esetében 3,25 nm-nek, míg ANN-FHS esetében 3,38 nm-nek adódott (Szarka et al., 2001).

pont egyikében lesz az ismeretlen pont. A fehérjék azonban háromdimenziós objektumok, így térben kell gondolkodnunk, és körök helyett gömböket kell szerkesztenünk.

Az ANN tulajdonságait ismerve kiválasztottunk két olyan további fluorofórt, amelyekkel az ANN energiatranszfer kapcsolatot hozhat létre. Ezeket korábban már kidolgozott módszerekkel külön-külön hozzákapsoltuk a miozinhoz. Mind a két fluorofór esetében tudtuk tehát azt, hogy hova kötődnek a miozinféjen belül; az egyik egy cisztein, a másik egy lizin aminosavhoz kapcsolódott. Ezt követően a FRET módszerének segítségével meghatároztuk, hogy az ismeretlen helyen lévő ANN milyen távolságban van ezektől a fluorofóroktól, és az ismert cisztein és lizin pozíciókat középpontnak tekintve, a mért távolságokkal – mint sugarakkal – megszerkesztettük a két gömböt. A fentiek szerint, mivel csak két referenciapontot tudtunk alkalmazni, az ANN helyének pontos kijelölése még egy alulhatározott problémát jelentett. Ahhoz, hogy ténylegesen és hitelesen megállapítsuk, hova köt a miozinban az ANN, további ismereteket kellett felhasználnunk.

Ekkor már rendelkezésünkre állt a miozin szerkezetének atomi pontosságú leírása. A megszerkesztett két gömböt erre az atomi szerkezetre illesztettük. Szerencsés helyzetben voltunk, ugyanis kiderült, hogy a két gömb metszeteként előálló kör a szerkezetben egyetlen szerinmolekulán megy keresztül. A méréseink alapján tehát ez volt az az aminosav (szerin-181), amelyhez az ANN kapcsolódott (Szarka et al., 2001). A FRET-módszer alkalmazhatóságát támasztotta alá, hogy teljesen más eljárást és stratégiát választva nem sokkal később egy másik kutatócsoport is a miénkel megegyező következtetésre jutott az ANN

miozinon belüli pozícióját illetően (Hirat-suka – Katoh, 2003).

Fehérjeszerkezet belső átrendeződésének vizsgálata: aktin

Az aktin talán „magyar fehérjének” is tekintethető, amennyiben 1942-es felfedezése és elnevezése a Szent-Györgyi Albert laboratóriumában dolgozó Straub F. Brunó nevéhez fűződik (Feuer et al., 1948). Az elmúlt hetven év kutatásai alapján az aktin esszenciálisnak bizonyult mind az izom-, mind pedig a nem izomsejtek működésében. Biológiai funkcióját elláthatja monomerként vagy a monomerek specifikus összekapcsolódását követően filamentális formában is. Szerepe szerteágazó, bonyolult szabályozási folyamatok által kontrollált. Ahhoz, hogy ennek a rendkívüli fehérjének a funkcionális sokszínűségét megérthessük, ismernünk kell, hogy hogyan alkalmazkodik a megváltozott környezethez, és hogyan befolyásolják a hozzá kötődő kis-molekulák vagy egyéb fehérjék a szerkezetét és a működését.

Az aktinhoz számos más ligandum mellett pozitív töltésű ionok (kalcium és magnézium) és energiatárolásra képes molekulák, nukleotidok (ATP) is képesek kötődni. Már a 80-as évek közepétől külön tudományterület foglalkozott annak leírásával, hogy ezek a molekulák milyen hatással vannak az aktinra. Vizsgálataink során mi is tanulmányoztuk a kérdéskört.

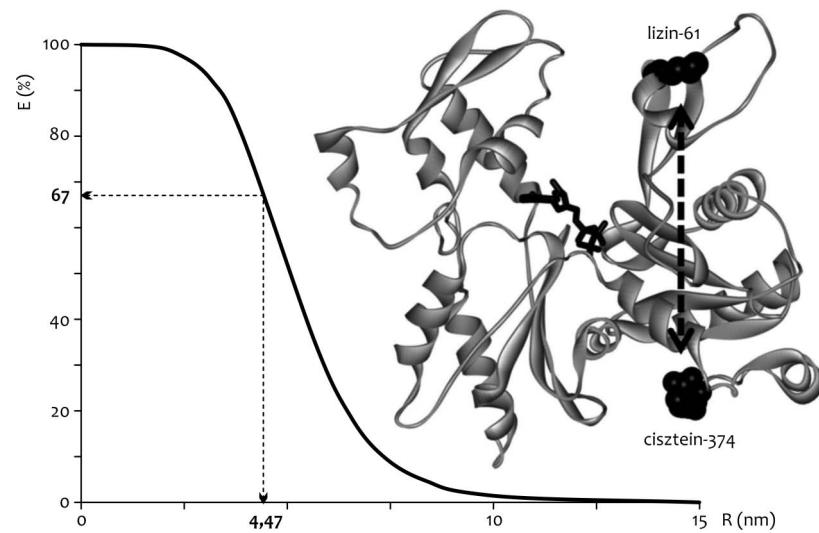
A méréseinket egy speciális, a FRET alkalmazására épülő módszerre alapoztuk, amelynek alapjait a magyar biofizika egyik fellegvárában, Debrecenben tették le. Damjanovich Sándor kutatócsoportjában Somogyi Béla volt az, aki először felvetette annak a lehetőségét, hogy a FRET alkalmazásával jellemezzük a fehérjék szerkezeti dinamikájának

megváltozását. A módszer használata során a FRET hatékonyságát több hőmérsékleten is meg kell mérni. A kapott hőmérsékletfüggő adatok megfelelő kiértékelésével képet kaphatunk arról, hogy a vizsgált fehérje szerkezeti dinamikai tulajdonságaiban milyen módosulások álltak be különböző külső körülmények hatására (Somogyi et al., 1984).

Korábbi tanulmányokból ismert volt, hogy az aktin funkcionálitása megváltozik különböző kationok vagy nukleotidok megkötése vagy az oldat savasságának (pH) megváltozása esetén. Mi arra kerestük a választ, hogy ezek a funkcióbeli különbségek milyen kapcsolatban vannak az aktin szerkezeti dinamikájának változásával. Kutatásaink során a fent ismertetett hőmérsékletfüggő FRET-méréseket alkalmaztuk. A vizsgálatok érdekében az aktint fluoreszcens donorral (cisztein-374) és akceptorral (lizin-61) jelöltük. A mérési eredmények ismeretében megállapítottuk, hogy mind az aktin monomer, mind pedig az aktin filamentum szerkezete merevebb abban az esetben, ha kalcium helyett magnéziumot köt (Nyitrai et al., 1998; Nyitrai et al., 1999). Azt is megfigyeltük, hogy az ATP hidrolízisét követően az ADP-t kötő aktin szerkezete fellazul (Nyitrai et al., 2000), és savasabb környezetben, azaz alacsonyabb pH-értékek mellett, ez a fehérjeszerkezet merevebbé válik (Hild et al., 2002).

A FRET-módszer egy speciális alkalmazásával tehát olyan, eddig nem ismert finom szerkezeti módosulásokat tudtunk leírni, amelyek az aktin biológiai funkciójának betöltése során fontos szerepet játszanak.

Ezeknek a kísérleteknek a sikerein felbuzdulva azt kezdtük el vizsgálni, hogy az aktin szabályozásában részt vevő fehérjék vajon befolyásolják-e az aktin szerkezetét. A 2000-es évek elején az aktinkötő fehérjéknek egy



2. ábra • Az aktin két kitüntetett pontja (lizin-61–cisztein-374) közötti távolság meghatározása a FRET technika segítségével. A számolt távolság 4,47 nm 67%-os energiáttranszfer esetén. Az R_0 érték meghatározásának eredménye 5,04 nm volt (Nyitrai et al., 1998).

speciális csoportja került a kutatások homlokterébe. Ezek a fehérjék meghatározó szerepet töltenek be a sejten belüli aktinhálózatok gyors kialakításában. A filamentumképző fehérjék közül mi a kutatásainkat a forminokra összpontosítottuk. A hőmérsékletfüggő FRET alkalmazásával kimutattuk, hogy a forminok által létrehozott aktin filamentumok szerkezete lazább, mint azoké, amelyek spontán, forminok nélkül alakultak ki (Bugyi et al., 2006; Papp et al., 2006). A továbbiakban azonosítottunk két olyan aktinkötő fehérjét, a tropomiozint és a miozint, amelyek a forminok által fellazított aktin filamentumokat képesek stabilizálni (Újfalusi et al., 2009).

A vizsgálataink eredményei felvetettek egy izgalmas kérdést: mi a biológiai szerepe annak a változásnak, amit a forminok az aktin filamentumok szerkezetében okoznak?

A kérdés megválaszolása érdekében figyelembe vettük, hogy a sejteken belüli aktinhálózatok vizsgálata során feltárt apró mozaikon keresztül kirajzolódott egy érdekes összefüggés. Az aktinkötő fehérjék egy csoportja azokhoz az aktin filamentumokhoz kötődik inkább, amelyeket forminok segítségével alakított ki a sejt, ugyanakkor egy másik csoport nem szívesen kapcsolódik a forminok által létrehozott filamentumokhoz, sokkal inkább megfigyelhető más filamentumképző fehérjék környezetében. Ez arra enged következtetni, hogy az aktinkötő fehérjék felismerik, hogy milyen filamentumképző fehérje hozta létre az aktin filamentumot. Hogy miként? Ez ma sem teljesen világos.

Eredményeink ismeretében erre az érdekes kérdésre adódik egy érdekes válasz. Azt a méréseink igazolták, hogy a forminok megváltoztatják az aktin szerkezetét. Bár még

ellenőrzésre vár, feltételezhető talán az is, hogy más filamentumképző fehérjék is módosulásokat okoznak az aktin szerkezetében, de ezek más értelmű és jellegű módosulások, mint a forminok esetében. Ha így van, akkor az is könnyen elképzelhető, hogy ezek a szerkezeti módosulások befolyásolják azt, hogy egyes aktinkötő fehérjék milyen erősen tudnak kapcsolódni a filamentumokhoz. Ez a molekuláris mechanizmus megmagyarázná azokat a sejtekben tett megfigyeléseket, amelyek az egyes aktinkötő fehérjék differenciált kötésére vonatkoztak.

A modell jelenleg még igazolásra vár, a folyamatban lévő kísérletek eredményeinek ismeretében lehet majd hitelesen alátámasztani az érvényességét. Akár így, akár úgy, ez a példa is megmutatta, hogy a FRET megfelelő alkalmazásával a biológiai folyamatok értelmezésének és megértésének új kapui nyílhatnak meg.

Zárszó

A Förster-féle energiáttranszfer tanulmányozása és alkalmazása hatalmas utat tett meg a

felfedezése óta eltelt hatvanöt év alatt, a közel-múltban is számos új, a módszerrel kapcsolatos felfedezés és elmélet született. Huib Bakker és munkatársai például nehésvízben karakterizálták az O=D csoportok között végbemenő Förster-féle energiáttranszfert (Piatkowski et al., 2009). Igor Pugliesi és munkatársai pedig energiáttranszfert figyeltek meg egymásra merőleges tranzíciós dipólmomentummal rendelkező donor–akceptor rendszerekben. A megfigyelés értelmezéséhez az eredeti Förster-féle képlet módosítására volt szükség: a szerzők szerint az általuk ismert rendszerben az energiáttranszfer határfoka a donor–akceptor pár távolságának harmadik hatványával skálázódik (Pugliesi et al., 2012).

Mindezek fényében optimisták lehetünk a FRET tekintetében: valószínűleg további innovatív kísérletekre és látványos eredményekre számíthatunk még hosszú ideig.

Kulcsszavak: fehérjeszerkezet és -funkció, fluoreszcencia spektroszkópia, Theodor Förster, FRET, aktin, miozin, formin

IRODALOM

- Bugyi Beáta – Papp G. et al. (2006): Formins Regulate Actin Filament Flexibility through Long Range Allosteric Interactions. *The Journal of Biological Chemistry*. 281, 16, 10727–10736. • <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2865996/>
- Feuer György – Molnár F. et al. (1948): Studies on the Composition and Polymerization of Actin. *Acta Physiologica Hungarica*. 1, 4–5, 150–163. • <http://actin.aok.pte.hu/archives/>
- Förster, Theodor (1946): Energiewanderung und Fluoreszenz. *Naturwissenschaften*. 6, 166–175. DOI: 10.1007/BF00585226
- Förster, Theodor (1948): Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz. *Annalen der Physik*. 437, 1–2, 55–75. DOI:10.1002/andp.19484370105
- Hild Gábor – Nyitrai M. et al. (2002): Intermonomer Flexibility of Ca- and Mg-Actin Filaments at Dif-

- ferent Ph Values. *European Journal of Biochemistry*. 269, 3, 842–849. DOI: 10.1046/j.0014-2956.2001.02716.x • <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.0014-2956.2001.02716.x/full>
- Hiratsuka, T. (1989): Nucleotide-Induced Specific Fluorescent Labeling of the 23-Kda Nh2-Terminal Tryptic Peptide of Myosin Atpase By the Serine-Reactive Reagent 9-Anthroylnitrite. *The Journal of Biological Chemistry*. 264(30), 18188–18194.
- Hiratsuka, Toshiaki – Katoh, Tsuyoshi (2003): Chemical Identification of Serine 181 at the ATP-Binding Site of Myosin as a Residue Esterified Selectively by the Fluorescent Reagent 9-Anthroylnitrite. *The Journal of Biological Chemistry*. 278, 34, 31891–31894. doi:10.1074/jbc.M303212200 • <http://www.jbc.org/content/278/34/31891.long>
- Lakowicz, Joseph R. (2006): *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer, New York • [1078](http://books.</p>
</div>
<div data-bbox=)

- google.hu/books?id=-PSybuLNxcAC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false
- Nyitrai Miklós – Hild G. et al. (1998): Effect of Ca²⁺-Mg²⁺ Exchange on the Flexibility and/or Conformation of the Small Domain in Monomeric Actin. *Biophysical Journal*. 74, 5, 2474–2481. • <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1299589/pdf/9591673.pdf>
- Nyitrai Miklós – Hild G. et al. (1999): The Flexibility of Actin Filaments as Revealed by Fluorescence Resonance Energy Transfer. The Influence of Divalent Cations. *The Journal of Biological Chemistry*. 274, 19, 12996–13001. doi:10.1074/jbc.274.19.12996 • <http://www.jbc.org/content/274/19/12996.full>
- Nyitrai Miklós – Hild G. et al. (2000): Conformational and Dynamic Differences between Actin Filaments Polymerized from ATP- or ADP-Actin Monomers. *The Journal of Biological Chemistry*. 275, 52, 41143–41149. doi:10.1074/jbc.M004146200 • <http://www.jbc.org/content/275/52/41143.long>
- Papp Gábor – Bugyi B. et al. (2006): Conformational Changes in Actin Filaments Induced by Formin Binding to the Barbed End. *Biophysical Journal*. 91, 7, 2564–2572. doi: 10.1529/biophysj.106.087775 • <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1562385/>
- Piatkowski, Lukasz – Eissenthal, K. B. et al. (2009): Ultrafast Intermolecular Energy Transfer in Heavy Water. *Physical Chemistry Chemical Physics – PCCP*. 11, 40, 9033–9038. DOI: 10.1039/B908975F
- Pugliesi, Igor – Langhals, Heinz et al. (2012): New Perspectives on Ultrafast Förster Resonant Energy Transfer. XVIIIth International Conference on Ultrafast Phenomena, Lausanne
- Somogyi Béla – Matkó J. et al. (1984): Förster-type Energy Transfer as a Probe for Changes in Local Fluctuations of the Protein Matrix. *Biochemistry*. 23, 15, 3403–3411.
- Szarka Krisztina – Bodis E. et al. (2001): 9-Anthroylnitrile Binding to Serine-181 in Myosin Subfragment 1 as Revealed by FRET Spectroscopy and Molecular Modeling. *Biochemistry*. 40, 49, 14806–14811. DOI: 10.1021/bio11097k
- Ujfalusi Zoltán – Vig A. et al. (2009): Effect of Tropomyosin on Formin-Bound Actin Filaments. *Biophysical Journal*. 96, 1, 162–168. • http://ac.els-cdn.com/S0006349508000258/1-s2.0-S0006349508000258-main.pdf?_tid=2f64f0957af9cc054tdbebad30e2f586&acdnat=1343680030_72faeb64d57c74d53e816e338861ade6
- Valeur, Bernard (2002): Molecular Fluorescence: Principles and Applications. Wiley-Vch, Weinheim-New York • [http://physweb.bgu.ac.il/~bogomole/Books/Valeur%20B%20-%20Molecular%20Fluorescence%20Principles%20And%20Applications%20-%20\(Wiley-Vch%202001_%20399%20P\).pdf](http://physweb.bgu.ac.il/~bogomole/Books/Valeur%20B%20-%20Molecular%20Fluorescence%20Principles%20And%20Applications%20-%20(Wiley-Vch%202001_%20399%20P).pdf)



Tanulmány

SPORT, EGÉSZSÉG, TÁRSADALOM

Jákó Péter

Országos Sportegészségügyi Intézet
jako.peter@upcmail.hu

A rendszeres fizikai aktivitás kezdetektől fogva az emberi lét természetes részét képezte. A mindennapi élet fenntartásához szükséges mozgásmennyiség, ha változó formában és mennyiségben is, de fellelhető a társadalmi formációk mindegyikében lényegében a 20. század derekáig, amikor a technika és tudomány eredményei az élet minden területén – ipar, mezőgazdaság, háztartás, közlekedés – az iparilag fejlett országokban drasztikusan csökkentették az addig habituális mozgásmennyiséget. Ezt pótlandó, mintegy szublimációként jött létre korunkban a sport, a testedzés, a fitneszipar, és lett a rendszeres fizikai aktivitás a különböző népegészségügyi programok része.

A következőkben áttekintjük a történelmi hátteret, a sport/testedzés különböző formáit, egészségre gyakorolt hatásukat, társadalmi elfogadottságukat, a népegészségügyi programok eredményeit és a jövő lehetőségeit.

Történelmi háttér

A történelem előtti időkben a fizikai aktivitás nem csupán az élelemszerzés, szálláshely keresése miatt volt szükséges, de kialakult a

„paleolitikus ritmus” (Eaton et al., 1988): zsákmanyszerzésért való néhány napos intenzív mozgást pár napos lakoma, kultikus táncokkal való ünneplés követett.

A földművelés elterjedésével a letelepedettek között létrejött munkamegosztási folyamatok különböző mozgást igényeltek, ezért a klasszikus görög filozófia és orvoslás már korán azt hirdette, hogy a hosszú élet titka a betegségek megelőzése, ami megfelelő étrenddel és a fizikai aktivitás egyénre szabott formáival érhető el. De még korábban találhatók írásos emlékek Kínából és Indiából is, amelyek a mozgás egészségre kifejtett hatásával foglalkoznak. A modern, „nyugati” orvoslás prevenció szemléletének életmódra vonatkozó alapját leginkább Hippokratész és Galénosz tanításai jelentik.

Az ókorban is meghatározta a társadalmi helyzet, mennyire érvényesülhetnek az egészséges életvitelről szóló tanítások, hiszen ezek a szabadokra vonatkoztak, a rabszolgák esetében ennek fontossága elhanyagolható volt. A középkorban a nemesség, a lovagok élete a harcra való készülődés jegyében zajlott, erre „treníroztak” gyermekkoruktól, lovagi torná-