

TOMPA KÁLMÁN

Molekuláris mozgások fehérjékben

Első rész

Történelem jelenidőben

Élettudománnyal és fizikai anyagtudománnyal foglalkozó kutatók egyik hazai találkozására a Mágneses Rezonancián alapuló képalkotás (MRI) hajnalán és légkörében több mint harminc évvel ezelőtt került sor, és kísérleti munka kezdődött a MTA Központi Fizikai Kutató Intézetének (KFKI) Nukleáris Mágneses Rezonancia (NMR) Laboratóriumában. Az akkor kezdett és később nemzetközileg is eredményesnek ítélt munka két területe ma is létezik; ezek a humán és állati szemlencséken végzett vizsgálatok, valamint növekvő súllyal liofilizált fehérjék és fehérje vizes oldatok molekuláris szintű kísérleti kutatása. A látszólag különálló területek között ma már közös stratégiai kutatási célkitűzés fogalmazható meg: pontosan definiált, közvetlenül mérhető fizikai mennyiségek bevezetése és használata fehérjék dinamikai tulajdonságainak molekuláris szintű megismerésében. Három, a dolgok jelenlegi állását is bemutató angol nyelvű publikáció [1] [2] [3] ad időrendi betekintést a történetre, és az ott, valamint az azokban hivatkozott cikkek szerzőit tekinthetjük a hazai történet tényleges szereplőinek.

Jelenlegi és a folytatásként majd következő írásunk felépítésében nem követünk fordított logikát: azaz nem a végső ismeretek birtokában fogalmaztuk meg kezdeti célkitűzéseinket. Ehelyett itt is végigjárjuk azt az utat, amit munkánk során ténylegesen követtünk. Tesszük ezt azzal a céllal, hogy a most indulók és az utánunk jövők lássák: nem egy modell által vezérelt, vagy az utólag már világosan megfogalmazható cél volt a meghatározó munkánkban. Az úton, amit követtünk, pontosan definiált, közvetlenül mérhető fizikai jellemzők bevezetésének a szándéka, valamint segítségükkel a megfigyelt jelenségek mélyebb megértésének az igénye vezetett. Reméljük, hogy a bemutatott eredmények segítenek majd eligazodni és továbbmenni a még előttünk álló, végül néhány lépésben vázolt, akár kutatási programnak is tekinthető gyalogúton.

Szubjektív bevezetés: tények, analógiák, kétségek

A szóban forgó hazai munka úgy kezdődött, hogy egy gyakorló klinikus orvos, akít a műtéti megoldásokon túl érdekeltek a mélyebb összefüggések is, egy több mint tízéves kísérleti anyagtudományi tapasztalatú fizikus, egy kutatói adottságú technikus és egy akkor világszínvonalú BRUKER NMR spektrométer találkoztak a KFKI NMR laboratóriumában. Az orvosi cél, miszerint szeretnék mélyebben megismerni a szürkehályog kialakulásának természetudományos hátterét, nem tűnt irreálisnak. A szemlencse az élő anyag olyan képviselőjének látszott, ami szilárdnak tűnt és egészséges állapotában átlátszó volt, hasonlóan a hagyományos üvegekhez és polimerekhez. Egyébként fogalmunk sem volt arról, hogy fehérjék tömény vizes oldatainak vizsgálatát kezdtük el. *(Az eredmények a Természet Világa 2010 októberi számában „A szemlencse természetudományos szemmel” című cikkünkben nyomon követhetők.)*

Azután a történet jó pár évvel később úgy folytatódott, hogy a MTA Enzimológiai Intézetének molekuláris szinten gondolkodó biokémikusa egy családi összefüggésről beszélt, hogy nem minden fehérjemolekula viselkedik úgy, ahogy azt a tudományművelés akkori szintjén nagyon sokan elvárják. A

kérdéskör vizsgálata izgalmasnak tűnt, és bizonyos tapasztalattal a tarsolyunkban, új területen alkalmazhattuk a szemlencséken kipróbált NMR-módszerek lényegét, és folytathattuk az ott választott utat a globuláris („rendezett”) és a szokatlanul viselkedő („rendezetlen”) molekulák vizsgálata területén *(az elnevezésekre, és azok sokszínűségére majd visszatérünk)*. A dajkafehérjék családjába tartozó molekulák vizes oldatai voltak az első tanulmányozott mintáink [4]. A magunk elé állított kutatási cél magától értetődő volt: Vizsgáljuk meg a kapott „anyagmintákat” a kérdéses területen addig még nem alkalmazott fizikai módszerekkel. Nem volt határozott elképzelésünk a várható eredményeket illetően sem. Elindulásunk a „rendezetlen” fehérjékkel kapcsolatban rendezett első nemzetközi „workshopon” (2007, Budapest EMBO/Spine2, Workshop on IUP’s) új útnak nyitott.

A bevezető alapján úgy tűnhet a tisztelt olvasónak, hogy a témaválasztás véletleneként múlt, pedig szerintünk nem volt az; az érintettek motiváltsága és az objektív lehetőségek találkozási nyitott ajtót a hosszú távú együttműködésre a két tudományterület kutatói között.

Csupán emlékeztetőül: az informatika hardver hátterének, a modern (multidiszciplináris) anyagtudománynak a megszületésére hivatkozunk, ami úgy kezdődött

– egyáltalán nem tudatosan megfogalmazott projektcéllal –, hogy különböző tudományterületekkel foglalkozó kutatók együtt kezdtek dolgozni a Bell Laboratóriumában. Kezdetben nem is értették egymás „nyelvét”, mégis megszületett a félvezető tranzisztor, és tőlük függetlenül Japánban pedig a félvezető dióda, és lám, lám mivé: integrált áramkörökké növekedtek ezek a „neveléses kiségek”.

A kis kitérő után visszatérve a fehérjék vidékére (végül is ez az a terület, ami számunkra most a legfontosabb) megemlíjtük, hogy több mint 80 ezer fehérjemolekula adatait tartalmazza a PDB (Protein Data Bank) [5]. Az ott tárolt információban jelentős hányadot képez a röntgenszórással meghatározott, a molekulán belüli nehezebb atomok térbeli (geometriai) elrendeződésére vonatkozó adat. Halványabbak az ismereteink viszont a molekulákban nagy számban előforduló H-atomok elhelyezkedéséről, és az összes atomra egyaránt vonatkozó, NMR-időskálán jól látható mozgásokról. Természetesnek tartjuk, hogy a H-atomok elhelyezkedésével, valamint az atomi mozgások jellemzőivel kapcsolatban is megjelent a molekuláris szintű ismeretek bővítésének; továbbá az alkalmazott mérés technikák és kiértékelési módszerek kiterjesztésének az igénye. Távolról sem törekedve teljességre, néhány cikket idézünk az irodalomból – szándékosan

eredeti címükkel egyetemben –, amelyek bizonyos mértékű elégedetlenségnek (kételemeknek) adnak hangot az ismeretek akkori állását és következtetéseket illetően.

Ezek:

A Wlodaver és mtsai.: (FEBS Journal 2007, 1-21), Protein crystallography for non crystallographers or how to get the best (but not more) from published macromolecular structures (Fehérje kristallográfia nem-kristallográfusoknak, avagy miként kapjuk a „legjobbát” (de nem többet) a publikált makromolekuláris szerkezetekből),

A. Kuzmanic és mtsai.: (Nature comm. 5, 2014, 3220-29), X-ray refinement significantly underestimates the level of microscopic heterogeneity in biomolecular crystals (A röntgenszórás-finomítások jelentősen alulbecslik a mikroszkopikus heterogenitások szintjét biomolekuláris kristályokban),

A víz, illetve vízmolekulák szerepének fontosságára talán R. Matthews; (New Scientist, 2006. 32. Apr. 8.) cikk címével hívhatjuk fel a figyelmet „Without water it's all just chemistry. Add water and you get biology.” (Víz nélkül mindaz csak kémia. Adj hozzá vizet, és biológiát kapsz!)

B. Halle: (Phyl. Trans, Roy. Soc. Lond. B 2004, 359, 1207-1224) Protein hydration dynamics in solution. A critical survey (Fehérje hidratációs dinamika oldatokban. Kritikai áttekintés) c. munkájában még egy lényeges kérdésre hívta fel a figyelmet: modell-érzékenyek tartja a kapott eredményeket. Úgy tűnik, nem magukkal a mérésekkel vannak gondjai, hanem az eredmények értelmezésének/ megértésének a modellfüggésével!

Nem könnyített, inkább bonyolított a helyzetben az, hogy a fehérjék szerkezetét és funkcióját illetően lényeges paradigmaváltás történt; mintegy húsz évvel ezelőtt került fel a fehérjék rendjének/ rendezettségének a kérdése. Azóta számos összefoglaló munka jelent meg, és segítik az útkeresést a még bonyolultabbá vált területen. Nevezetesen az első, Tompa Péter által írott, *Structure and Function of Intrinsically Disordered Proteins* című, Sir Alan Fersht cambridge-i professzor előszavában „fine comprehensive overview”-nak minősített munkát [6], és V. N. Uversky és munkatársai által szerkesztett és részben írott, az alkalmazott technikák és módszerek teljes körű összefoglalóit [7, 8] kell megemlíteni. Az utóbbiak társszerzői között magyar kutatók szintén találhatók. A bennük lévő cikkek egyben felhívják a figyelmünket a hidrogén szerepének és a hidrogénmagok (pro-

tonok) kísérleti megfigyelésekben játszott szerepének a fontosságára is.

R. Matthews idézett munkájának címét olvasva a természettudomány fizikus művelőiben felmerülhet az a kérdéskiegészítés is, hogy a kémián-biológián túl mi lehet a szerepe a mozgások tudományának: a fizikának itt az élettudományban is. A kérdést V. N. Uversky nyomán; *Natively unfolded proteins: a point where biology waits for physics (Eredetileg rendezetlen fehérjék: ahol a biológia fizikára vár), (Protein Sci. 11, 739-56, 2002), és; A decade and a half of protein intrinsic disorder: Biology still waits for Physics (A fehérjék eredeti rendezettségének másfél évtizede: Biológia még mindig a Fizikára vár), (Prot. Sci. 22, 693-724, 2013), ugyanúgy tehetjük fel mi is. A két cikk megjelenése között már tizenegy év telt el, és még mindig indokoltnak tűnik a fizika aktívabb részvételére való csalogatás, és nem csökken az igény a területtel kapcsolatos kérdések pontosabb megfogalmazása és a kapott válaszok megértése irányában. A fehérjék jellemzése és csoportokba sorolása szintén jogos, és a lehetséges kategóriák elnevezésének változatossága önmagában is sokat mond a jelen helyzetet és a tennivalókat illetően. Uversky az imént másodikként említett cikkében összegyűjtötte az irodalomban használt elnevezéseket és állapotjelzőket. Közülük érdemes felsorolni néhányat, mert az említett példákban is visszatükröződik a kérdéskör „multikulturális”, viszonylagos határozatlanságra valló sokszínűsége. A használt elnevezések például: *pliable, flexible, mobile, vulnerable, chameleon, dancing and the combinatios of natively, naturally, inherently, intrinsically with unfolded, unstructured, disordered, denaturated*. Meg sem kíséreltem magyarrá fordításukat, és jókedvünkben adhatnánk továbbiakat is a felsoroláshoz, miután megnéztük néhány molekula publikált, Uversky „rend”-orségi nyilvántartásában szereplő arcképét. Szóhasználatunkban a továbbiakban – gondolatban idézőjelesen – a rendezett és rendezetlen elnevezéseket használjuk.*

Ami a lényegét illeti, a sokszor nem is definiált elnevezésen túl, szükségesnek tartjuk közvetlenül mérhető fizikai mennyiségen alapuló rendparaméter jellegű mennyiségek bevezetését, amelyek segítenek viszonylag könnyen eldönteni, hogy egy adott fehérje a rendezett vagy rendezetlen fehérjék csoportjába, vagy adott mértékig melyikbe tartozik. A kérdéskör tisztázásához való hozzájárulás munkánk távlati célja. Jelesül; azokat a kérdéseket vizsgáljuk, hogy a fehérjék liofilizált (esetleg kristályos) mintáiban,

illetve vizes oldataiban definiálható-e, valamint mérhető-e egy vagy több rendparaméter jellegű a rendezettség/redezetlenség mértékére vonatkozó mennyiség, és nyomon követhető-e bizonyos élettani folyamatok során annak/azoknak mennyiségi változása. Meggyőződésünk, hogy ez a jellemző, vagy jellemzők nem lehet, vagy nem lehetnek sztatikus jellemző/k, hanem a fehérje és a kölcsönható fehérje+víz molekulák élettani körülmények közötti dinamikájáról kell információt nyújtania, illetve nyújtaniuk*.

Számunkra ma már nem kétséges, hogy a fehérjék molekuláris szintű (az életfeltételekhez hasonló körülmények közötti) kutatása a XXI század vitathatatlanul egyik kiemelkedő tudományos és gyakorlati szempontból távolról sem elhanyagolható feladata. Ehhez igényes minta-előállítási technológia, igényes mérés-technika és mérés, a mérési adatok magas szintű értelmezése és bemutatása szükséges. A kutatómunka mozgásteret multidiszciplináris, magában foglalja az élettudomány, a természet- és műszaki tudomány, informatika sajátos ágait. A tudományművelők remélhetőleg itt is megértik majd egymás „nyelvét”, hasonlóan, mint annak idején a Bell Laboratóriumban.

A kísérletekről röviden

Az NMR-spektroszkópia az elektromágneses hullámokkal végzett anyagtudományi kutatások közé tartozik, és sokféle kísérleti kérdés feltevését teszi lehetővé a vizsgált anyag tulajdonságait illetően. Szép példa ez arra, amit talán a műszaki tudomány tett fel először: nevezetesen, hogy egy bonyolult hálózat/rendszer (fekete doboz) tulajdonságai miként deríthetők fel, ha a bemenetén és a kimenetén is csak egy-egy kétpólusú csatlakozás áll a rendelkezésünkre. A válasz az, hogy a bemenő oldalon gerjesztve a rendszert: kérdezzük, és a kimenő oldalon a „fekete doboz” karakterisztikájából (itt a fehérje jellemzőiből) és a gerjesztő jelből álló, összetett választ detektáljuk. Változtatva a bemenő gerjesztést, leválasztható a „fekete dobozra” jellemző információ. A pulzusgerjesztésű NMR-spektroszkópia sokféle pulzusgerjesztést használ a bonyolult tulajdonságú anyag („fekete doboz”) fizikai-kémiai tulajdonságainak a felderítésére. Minden egyes gerjesztés, azaz minden pulzuskombináció magában hordozza a várható választ; nincs jó és kevésbé jó

* Modellfüggetlennek nem tekinthető, formális matematikai illesztéséből származó, vagy a lehetséges konfigurációk számosságán alapuló paramétereket nem sorolunk ebbe a kategóriába.

változat, attól függ, hogy mire kérdezzük; az egész molekulára vagy annak egyes részeire, elektronszerkezeti (kémiai eltolódás) vagy dinamikai jellemzőkre. Sztatikus jellemzők alapvetően a spektrumból nyerhetők, dinamikusak a relaxációs időkből. Azonban a spektrum is segíthet a „fekete doboz” dinamikai tulajdonságainak a felderítésében, ha változtatjuk azokat, például változtatjuk a vizsgált mintánk hőmérsékletét. Így minden hőmérsékleten az arra jellemző termikus egyensúlyi állapot sztatikus jellemzői regisztrálhatók. A sztatikus jellemzők változása a hőmérséklettel viszont már dinamikai információt hordoz.

A továbbiak jobb érthetősége, a most indulók és az NMR-spektroszkópiában kevésbé járatosak kedvéért talán nem felesleges az NMR-alapok néhány elemének ismertetése. Alapegyenletünk a rezonancia feltétel: $\omega = \gamma B$ (ahol ω a rádióhullám körfrekvenciája, γ a kérdéses atommag giromágneses faktora, és B pedig az alkalmazott külső mágneses-, és a vizsgált anyag elektronoktól és szomszédos mágneses dipólus momentummal rendelkező atommagoktól származó belső mágneses tér összege) mind a kvantumfizika, mind a klasszikus fizika alapján megalapozott összefüggés. Így ω és B ismerete alapján egyértelműen azonosítható a detektált atommag, esetünkben a proton. A megfelelően választott hosszúságú rádióhullám-csomagra (pulzusra) adott válasz az idő függvényében („idő-doménben”) kapott információ és annak Fourier-transzformáltja pedig a frekvencia függvényében („energia-doménben”) kapott spektrum (ábra). A lokális belső mágneses tér, B_{lok} szomszédos protonoktól származó járuléka határozza meg a spektrum szélességét, ami jó közelítéssel kb. 50-szerese a külső mágneses térre adott diamágneses válaszból: a kémiai eltolódásból származó lokális terek kémiai különbségekből adódó eloszlásnak.

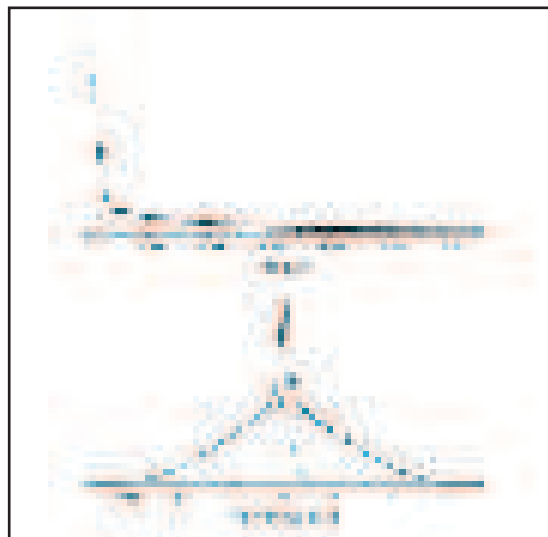
Idézett munkánkban a lehető legegyszerűbb változatot, az egyetlen rádiófrekvenciás pulzust alkalmaztuk, és célszerűen változtattuk a „fekete doboz” hőmérsékletét. Első lépésként a szomszédos protonoktól származó B_{lok} tér vizsgálatát (pontosabban a lokális tér négyzetes átlagértékének a meghatározását) tűztük ki célul. A lokális tér négyzetes átlaga azonos az egy gerjesztő pulzus után detektálható spektrum M_2 második momentumával. Ez az a mennyiség, ami a hidrogénatomok (következésképpen a rezonáns hidrogén atommagok) geometriai elhelyezkedéséről, mozdulatlanságáról, illetve mozgási állapotáról az atommagok (protonok) mágneses

dipólus-momentumai közti kölcsönhatás alapján a legközvetlenebb információt adja. Méréseink során felvettük és értékeltük mind a merev hidrogénrácsra utaló alacsonyhőmérsékleti, mind a magasabb hőmérsékleti úgynevezett „mozgási keskenyedett” (lásd pl. [9]) spektrumokat. Számos fehérjét vizsgáltunk meg a sokak által „idejétmúltnak” minősített módszert, az egy (esetleg két) komponensből álló spektrum felvételét és elemzését használva**. Természetesen kissé eltértünk az általában használt gyakorlatól, több ponton kiegészítve azt. Nevezetesen: segítségül hívtuk a mérésben és a kiértékelésben is a „termodinamikát”, nem elégedtünk meg a spektrum kvalitatív leírásával, analitikai jellemzőt/jellemzőket is mértük a spektroszkópiai jellemzőkön túl.

Az ábrán bemutatunk egy szobahőmérsékleten idő-doménben felvett NMR-jelet és egy frekvencia-doménben ábrázolt spektrumot, közöttük – amint már említettük – Fourier-transzformációs kapcsolat áll fenn. Mindkét ábrázolás kétkomponensű jelleget mutat, ami azt jelenti, hogy anyagmintánk két nagyon különböző lokális környezetű és mozgékony-ságú részre bontható, következésképpen két különböző környezetű és mozgékony-ságú hidrogén magot (protont) is tartalmaz. Minden eddig vizsgált liofilizált fehérjénk és fehérje vizes oldatunk spektruma is hasonló karakterű, csak a komponensek aránya különböző. Az idő-doménben felvett NMR jel alapján a különböző lecsengési idejű komponensek $t=0$ időpontra extrapolált amplitúdói szolgáltatnak alapot

**Roncsolásmentes mérésekre törekedtünk, akár a Heisenberg-féle határozatlansági reláció szintjéig. A mindennapok nyelvén szólva; olyan mérési módszert választunk, ahol nem mi magunk mozdítjuk el a helyükről az atomokat miközben azok helyét akarjuk meghatározni. Felmerülhet ugyanis az az alapvető kérdés, hogy mi történik a molekulával, miközben „2-20 keV ($3,2 \cdot 10^{-9}$ - 8) erg) energiájú röntgen-fotonokkal végzünk helymeghatározást: Mit mond ekkor a határozatlansági összefüggés a kanonikusan konjugált partnerre az impulzusra (sebességre)? A 100 MHz frekvenciájú rádióhullám fotonjai $6 \cdot 10^{-19}$ erg energiájúak, azaz 10-11 nagyságrenddel alatta vannak a röntgen fotonokénak, és 6-7 nagyságrenddel az élettani folyamatokban szerepet játszó reakciók 10^{-13} - 12) erg energia szintjének.

az adott fázisban lévő atommagok számának a meghatározására, a frekvencia-doménben ábrázolt spektrum szélessége (pontosan a spektrum statisztikában definiált eloszlásfüggvényének páros momentumai, domináns módon a második) pedig az adott fázisban lévő atommagok NMR-látta mozgékony-ságára. Alacsony hőmérsékleten eltűnik, vagy csak nem tudjuk megkülönböztetni a két komponens, viszont a spektrumszélesség (momentum) változása a „fekete doboz”



Liofilizált fehérjén szobahőmérsékleten idő-doménben felvett NMR jel (felső ábra) és frekvencia-doménben ábrázolt proton NMR-spektrum. Mindkét ábrázolás kétkomponensű jelleget mutat, és minden eddig vizsgált fehérjénk spektruma hasonló karakterű, csak a komponensek aránya változik a hőmérséklet, a minta víztartalma és fehérje sajátosságainak függvényében

termikus változására utal. Talán nem felesleges megemlíteni, hogy kvantitatív következtetések nagy pontosságú mérés és kiértékelést követelnek. (Részletes leírás [2],[3] publikációkban, illetve [7], [8] könyvrészleteiben található.)

3. A hidrogénrács merevsége, illetve mozgékony-sága

A bevezetőben említett munkánkban [2] a mért protonspektrumok alapján meghatároztuk a második momentumok értékét liofilizált mintákban cseppfolyós He és szobahőmérsékleteken. M_2 változását hidrogén mozgékony-sági paraméter bevezetésével jellemeztük. Az általunk bevezetett és rendparaméter sajátosságokkal rendelkező hidrogénmobilitás (HM(T)) a protonok helyén lévő lokális mágneses tér négyzetes átlagának ismeretét, azaz a korábban említett páros (második) momentum meghatározását

igényli. Elméleti megalapozása Van Vleck Nobel-díjas munkájának az eredménye (lásd például [9]). Amint láttuk, jól mérhető és a protonváz geometriájának ismeretében vagy feltételezésével homogén rendszerekre (pl. fémek) és kismolekulákra elvben jól is számolható mennyiség.

Bonyolult nagymolekulák esetén a számoláshoz nagyszámú atom-koordináta és mozgás-jellemző (sebesség-koordináta) ismerete/feltételezése szükséges, a mérés pedig ugyanúgy elvégezhető, mint kismolekulák esetén. Tapasztalatok szerint nagymolekulák esetén nem is túlérzékeny változója a molekula sztatikus geometriai szerkezetének.

Arra gondoltunk, hogy talán nem is a protonok által „érzett” lokális mágneses terek szórásában (négyzetes átlag) kell keresnünk a rendezettséget/rendezetlenséget feltáró információforrást, hanem a már említett NMR mozgási keskenyedést segítségül hívva [9], a második momentum hőmérsékletfüggésében. Ekkor minden fehérjemolekula saját merev állapotát tekinthetjük vonatkozási pontnak. Így, a proton-proton párt összekötő (nem csak az első szomszédok kölcsönhatásának járulékként tartalmazó), saját mozdulatlan állapotára normált radiálvektor-változás adja a HM(T) rendparamétert, ami definíció szerint:

$$HM(T) = [M_2(RL) - M_2(T)] / M_2(RL),$$

ahol RL a merev rácsra (pl. cseppfolyós He hőmérsékleten mért), T pedig tetszőleges hőmérsékletre vonatkozó második momentum értékét jelenti. HM(T) tehát nem a maradékot (redukált második momentumot), hanem a mozgás következtében eltűnő második momentumrészt adja, feltételezhető összefüggésben a rendezetlenséggel. Visszaélve a szóhasználati szabadsággal: HM(T) a rendezetlenséget: a merevség/mozdulatlanság hiányát (és nem a lehetséges konfigurációk számosságát) mérő „rendparaméter”.

A merev rács terminológia a klasszikus szilárdtest-fizikából származik. Tapasztalat szerint az atomok, a molekulák vagy egyes molekularészek csak nagyon alacsony hőmérsékleten (cseppfolyós nitrogén, illetve cseppfolyós He hőmérséklet körül) mozdulatlanok, azaz eltekintve a rácsrezgésektől, a rács itt tekinthető merevnek. A momentum csökkenéséhez pedig, amit melegítéssel érünk el, a proton-proton párok távolságának és az azokat összekötő radiálvektor külső mágneses térhez viszonyított irányának a változását is ismerni kell. Könnyű belátni, hogy ezekről teljes-képet alkotni csak

sok-sok feltételezés alapján lehet. Talán nem tűnik fontoskodásnak a kérdés: mérhető-e a tennivalók sokasága a sztatikus (esetenként „kócos”) molekulaszerkezeti képek és a fehérjék testhőmérsékleten zajló működésének a megértése között? Az erre adható szkeptikus válasz ellenére feltételezhető, hogy a dinamikus kép közelebb visz a valósághoz, mint a sztatikus kép. Kézenfekvő tehát, hogy szükségünk van a feltételezéseken alapuló modellek helyett jól definiált, mérhető, a proton-proton vektorok átlagos mobilitását jellemző mutatóra vagy esetleg még további mutatókra.

Számos fehérjén végeztünk szobahőmérsékletre vonatkozó HM(T)-méréseket, a kapott eredményeket az idézett [2] publikációban mutattuk be. A vizsgált fehérjék között az etalonnak tekintett globuláris lizozim, a rendezetlennek minősített Thymosin béta 4 és az alfa-szinuklein vad (WT) és pontmutáns változatai szerepelnek.

Összehasonlítva a vizsgált fehérjékre vonatkozó adatokat, egyértelmű, hogy HM(T) markáns (közel egy kettes faktoral nagyobbat, mint a merev állapotban mért M_2) különbséget mutat a globuláris és rendezetlen fehérjék esetén. Az alfa-szinuklein pontmutánsok között talált különbségek viszont arra is felhívták a figyelmet, hogy a más módszerekkel rendezetlennek minősített molekulák között előfordulnak olyanok, amelyeknek a H-rács cseppfolyós He hőmérsékleten sem tekinthető merevnek. Szénhidrogének között is ismerünk egy cseppfolyós He hőmérsékleten a H-rács mozgékonyaságára utaló bizonyítékot [2]. A korábban többféle kísérleti módszerrel rendezetlennek minősített fehérjék hidrogén mozgékonyasága a $0 < HM(T) < 1$ skálán nagyobb ugyan a referenciának tekintett globuláris lizozim fehérjéénél, de egyik sem éri el a szénhidrogénekben talált 1-hez közeli mozgékonyaságot [2]. Ugyanakkor a referenciának tekintett polikristályos (rendezett) lizozim mozgékonyasága megközelítően sem zéró szobahőmérsékleten. Az eddig mért értékek az összes vizsgált fehérjén 0,4-0,75 közé esnek [2].

Az eddigiekben alig beszéltünk egy lényeges megfigyelésről. A hőmérséklet adott tartományában kétkomponensű spektrumot tudtunk detektálni, alacsony hőmérsékleten viszont csak egykomponensű. Ahol kétkomponensű a spektrum, ott két második momentum és két HM(T) paraméter is van. A keskeny spektrumrész (ábra) nagy HM(T), mozgékonyaságról árulkodik, az egyhez közeli HM érték majdnem totális

mozgékonyaságot jelent az adott komponensre, és emlékeztet a folyadékok (pl. víz) széles jelű NMR spektrumára. A keskeny komponens eredete alapvető fehérjedinamikai gondolatokhoz kapcsolható (A. L. Turnier et al, Phys. Rev. Letters: 2003, 91, 20610 1-4), bennünket pedig átvezet a fehérje vizes oldatok vizsgálatára.

Nyitott kérdés, hogy a mozgás(ok) megindulásának hőmérséklete és a rend/rendezetlenség között van-e összefüggés. A két sarokpontnak tekinthető fehérje, a lizozim és egy rendezetlen növényi fehérje, az ERD 14 HM(T) mozgékonyaságának részletes hőmérséklet függéséről PhD-munka és publikáció van előkészületben (Verebélyi T. et al. Chem. Phys. beküldés előtt), amiből további, a p-p vektorok mozgékonyaság jellemzőit és a „rendezetlenséget” összekapcsoló információ várható.

A továbbiakban feltétezzük, hogy nem is jellemezhetőek és nem osztályozhatók minden szempontból egyetlen „rend/rendezetlen” paraméterrel a fehérjék, amint arra a gyakran használt elnevezésből vagy a geometriai szerkezet alapján próbálnánk következtetni. Különösen indokolt tehát az a kérdés, hogy melyik, illetve melyek azok a geometriai szerkezeten és a proton-proton vektorok mozgékonyaságán túli fizikai/kémiai tulajdonság(ok), amelyek a fehérjék élettani szempontból fontos működését meghatározzák (dolgozatunk második részében erre visszatérünk).

4. Egy látszólagos kitérő,

(azért, hogy munkánkkal kapcsolatban milyen további kérdések tehetők fel): *1921-ben hárman kerékpártúrára mentek München környékén. Fiatalok voltak és fizikusok: Werner Heisenberg, Wolfgang Pauli, Otto Laporte (Sommerfeld tanítványa, neve kevésbé ismert, mint a másik két résztvevő), és beszélgettek útközben is, és este pedig néhány korsó sör mellett a kocsmában (W. H. Rész és egész c. önéletírása alapján). A 3. „A megértés fogalma a modern fizikában” című fejezet, annak különösen az első része érdekes számunkra (pontosabban most és itt általánosítva: a modern természettudományban). A kérdés, amit körüljártak: értjük-e, pontosabban milyen szinten értjük azt, amit kísérleti eszközünk képernyőjén látunk, illetve amiről beszélünk? (Nem idézhetem a teljes beszélgetést, csak néhány gondolatát a dinamika alapvetéséről, remélem pontosan, mert fontos lesz számunkra az élet(tan) számára fontos nagymolekulák esetén is!)*

Pauli: *Werner, megértted-e valahára a relativitáselméletet?*

Heisenberg: *Nem látom tisztán, hogy mit értesz megértés alatt a fizikában. Nem okoz gondot a relativitás matematikája, de ez még nem azt jelenti, hogy megértettem, hogy az idő szón miért ért valami mást a mozgó megfigyelő, mint a nyugalomban lévő.*

Pauli: *Ha felfogtad a matematikai gondolatmenetet, már teljes biztonsággal megmondhatod, hogy mit észlel vagy mit mér a mozgó és mit az álló megfigyelő, és joggal feltételezheted, hogy egy valódi kísérlet is ezt igazolná. Mit is lehet itt még kérdezni?*

Heisenberg: *No látod, pont ez az én problémám, nem is tudom, hogy mit kérdezhetnék még! Valahogy úgy érzem, be vagyok csapva; megcsalt a matematikai gondolatmenet logikája!*

Laporte megjegyzi, hogy „Az idő az, amit az óránk mutat”, és felteszi a kérdést: „A dolgok megértéséhez elegendő-e, hogy elméleti alapon egy megfigyelés eredményét előre megjósoljuk?”

Heisenberg a geocentrikus-heliocentrikus elméletek legalább kétezer éves történetére, ismétlődő paradigmaváltásaira utalt; remélve, hogy mélyebben megértjük a fizikai jelenségek megismerésének folyamatát. Egy kísérleti eredmény még nem bizonyítja az elméletek; a geocentrikus egymásra szuperponált ciklikus és epiciklikus pályák alapján megjósolhatók voltak a hold- és nap-fogyatkozások! Mégsem igazolták a geocentrikus világkép érvényességét. A két elmélet nem igazi alternatíva; mert nem azonos bennük az ismeretek: a megértés „mélysége”. A tömegvonzás felismerése, a Newton-féle törvények, Faraday elektromos erő- és potenciál-tér koncepciója kellett a „dolgok” mélyebb megértéshez, a pályák leírásán túl a hatóerők felismeréséhez..., és minden bizonnyal még a jó kérdések! A továbbiakat kötelező olvasmányként ajánlom kutatótársaimnak. A kerékpártúrán elhangzottak segíthetnek abban, hogy milyen további kérdéseket tegyünk fel a fehérjék működésének mélyebb megértését illetően, valamint annak elbírálásában, hogy jök-e azok. Továbbá: értjük-e, illetve milyen mértékben/mélységben értjük a kísérleteinkben feltett kérdésekre kapott válaszokat? A kapott információ rész-e, egész-e? Azonos mélységűek-e a látszólagos alternatívák? A fizika úgy-e a mozgások tudománya, és ismerjük-e a mozgásokat, illetve a mozgásváltozó-

sokat előidéző erőket, potenciálokat? A dolgozat második részében ezen az úton haladunk tovább.

Köszönetnyilvánítás

Nem formális köszönet illeti azokat a kutatótársaimat, akikkel hosszú éveken át dolgoztunk együtt akár a laboratóriumban, akár a célok kitűzését és/vagy az eredmények értelmezését illetően. Közülük ki kell emelnem Bánki Pétert, Bokor Mónikát, Rácz Pétert és Tompa Pétert: nélkülük a fenti gondolatok nem ölthetnek volna testet. A helyhiány miatt név szerint nem idéztek felsorolása helyett a mellékelt (saját) irodalmi lista szerzőire hivatkozunk, nekik is köszönöm, hogy együtt dolgozhattunk. Köszönjük továbbá a MTA, a Korean Research Council és a Wellcome Trust elvi és anyagi támogatását.

Irodalom

- [1]. K. Tompa, P. Bánki, M. Bokor, P. Kamasa, P. Rácz, P. Tompa, Hydration water/interfacial water in crystalline lens, *Exp. Eye Res.* 91: 76-84. 2010. doi: 10.1016/j.exer.2010.04.00
- [2]. K. Tompa, M. Bokor, K.H. Han, P. Tompa, Hydrogen skeleton, mobility, and protein architecture, *Intrinsically Disordered Proteins*, 1: 82-91. 2013. doi: 10.4161/idp.25767
- [3]. K. Tompa, M. Bokor, T. Verebélyi, P. Tompa, Water rotation barriers on molecular surfaces, *Chemical Physics*, 448:15-25, 2015, doi
- [4]. V. Csizmók, M. Bokor, P. Bánki, É. Klement, K. F. Medzirhadszky, P. Friedrich, K. Tompa, P. Tompa. Primary Contact Sites in Intrinsically Unstructured Proteins: The Case of Calpastatin and Microtubule-Associated Protein 2. *Biochemistry*, 44: 3955-3964. 2005. doi: 10.1021/bi047817f
- [5]. H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, I.N. Shingyalov, P.E. Bourne, *The Protein Data Bank, Nucleic Acids Res.* 28: 235-242. 2000. doi: 10.1093/nar/28.1.235
- [6]. P. Tompa, *Structure and Function of Intrinsically Disordered Proteins*, Taylor and Francis Group, Boca Raton, 2010
- [7]. V.N. Uversky, Sonia Longhi, Eds. *Instrumental Analysis of Intrinsically Disordered Proteins: Assessing Structure And Conformation*, John Wiley & Sons, 2010. doi: 10.1002/9780470602614
- [8]. V.N. Uversky, K.A. Dunker, Eds. *Intrinsically Disordered Protein Analysis*, Book Series: *Methods in Molecular Biology*, Vol. 895. Humana Press, 2012.
- [9]. C.P. Slichter. *Principles of Magnetic Resonance*, Springer Series in Solid-State Sciences Volume 1. 1990.

E számunk szerzői

DR. BABINSZKI EDIT geológus, tudományos főmunkatárs, Magyar Földtani és Geofizikai Intézet Földtani Kutatási Osztály, Budapest; DR. BOLDOGH SÁNDOR ANDRÁS zoológus, Ph.D., Aggteleki Nemzeti Park Igazgatóság, Jósvalfő; DR. CSABA GYÖRGY professzor emeritus, Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest; ENYEDI KATA NÓRA tudományos segédmunkatárs, MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest; DR. ESTÓK PÉTER főiskolai docens, Ph.D., Állattani Tanszék, Eszterházy Károly Főiskola, Eger; FARKAS CSABA újságíró, Szeged; DR. HOLLÓSY FERENC biológus, klinikai kutatási munkatárs, Budapest; DR. JANKÓ FERENC geográfus, egyetemi docens, Nyugat-magyarországi Egyetem, Sopron; LOCSMÁNDI CSABA főmuzeológus, Magyar Természettudományi Múzeum Növénytar, Makrogomba Gyűjtemény, Budapest; DR. MEZŐ GÁBOR tudományos tanácsadó, MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest; DR. NEBOJSZKI LÁSZLÓ mérnök-tanár, Szent László ÁMK Vízügyi Szakiskola, Baja; DR. SÁRNECZKY KRISZTIÁN csillagász, MTA Csillagászati és Földtudományi Kutatóközpont, Budapest; SZEMES BOTOND magyar szakos egyetemi hallgató, ELTE BTK, Budapest; DR. TOMPA KÁLMÁN, a fizikai tudomány doktora, az Eötvös Loránd Tudományegyetem c. egyetemi tanára, a MTA Wigner Kutatóközpont Szilárdtest-fizikai és Optikai Intézetének emeritus kutató professzora, Budapest; VASAS GIZELLA főmuzeológus, Magyar Természettudományi Múzeum Növénytar, Makrogomba Gyűjtemény, Budapest; VOJNITS ANDRÁS biológus, Budapest; DR. WIEGANDT RICHÁRD, a matematikai tudományok doktora, MTA Rényi Alfréd Matematikai Kutatóintézet, Budapest.

Augusztusi számunkból

Kiváncsiság és alázat a kórokozó iránt
Pályi Bernadettel és Kis Zoltánnal beszélget Lukácsi Béla
A talamusz titkai. *Acsády László* professzorral *Kittel Ágnes* beszélget
Schiller Róbert: A kémia régi fénye
Kalotás Zolt: A búbosbanka
Harangi Szabolcs: Tűzhányó-hírek
Both Előd: Hogyan változtatta meg a Hubble-űrtávcső a csillagászatot?
Szili István: Az indiai tündérrózsza
Csaba György: Az öntörvényűség becsülete (OLVASÓNAPLÓ)