

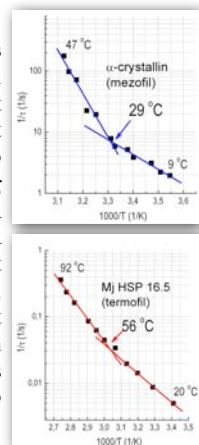
Tölgyesi Ferenc

## Makromolekuláris rendszerek (lipidmembránok, fehérjék) szerkezetének, dinamikájának vizsgálata

Korábban mesterséges lipidmembránok előállításával, szerkezetük, fázisátalakulásaik tanulmányozásával foglalkoztam, főként Dr. Szógyi Máriával és Dr. Györgyi Sándorral együtt dolgozva. A munkát a lipidmembránok kettős jelentősége – mint a sejtmembrán modellje tudományos, ill. mint gyógyszerzállító rendszer gyakorlati jelentőség – inspirálta. Ezért különféle fizikai és kémiai ágenseknek (hőmérséklet, pH, ionkörnyezet, felületaktív anyagok, különféle hatóanyagok) a lipidmembrán szerkezetére, stabilitására, permeabilitására kifejtett hatását tanulmányoztuk. Ezekben a munkákban a közös kérdés az volt, hogy a lipid molekulák közötti kölcsönhatások befolyásolása hogyan hat ki a szerkezetre és a membrán permeabilitására. A lipid fejcsoportok közötti kölcsönhatások erősítésével például kompaktabbá, stabilabbá tudtuk tenni a lipidmembránt – pl. foszfatidilkolin membrán esetében ezt egyértékű ionok segítségével értük el, a hatás a kationok esetében polarizálóképességükkel korrelált, vagy pl. foszfátid sav membránoknál a pH változtatásával és ezáltal a fejcsoportok közötti H-híd hálózat hangolásával tudtuk változtatni a membrán hőstabilitását. A lipid molekulák közé beépülő egyes felületaktív és más hatóanyagokkal destabilizáltuk a membránt, ezzel bizonyos ionokra, molekulákra megnöveltük a membrán permeabilitását [1].

Ilyen irányú munkáim, főként diákjaimmal, később is voltak – pl. a száj nyálkahártya epitél sejteinek membránját modellező lipidmembránt készítettünk, amellyel EGF kötődését tudtuk vizsgálni – érdeklődésem azonban a dr. Fidy Judit által akkoriban létrehozott fluoreszcencia laborhoz csatlakozva egyre inkább a fehérjék szerkezete és dinamikája felé fordult. Az új laborban alacsony hőmérsékletű és szobahőmérsékletű foszforeszcencia spektroszkópia beállításával foglalkoztam.

Sok fehérjében a triptofán foszforeszcenciája oxigénmentes mintában már szobahőmérsékleten is mérhető. Ezen méréseknél figyeltem fel arra, hogy a triptofán triplet állapotának dezaktivációja különös hőmérséklet függést mutat. Részben saját, részben mások méréseit tovább gondolva kimutattam, hogy a dezaktivációs sebesség Arrhenius plotja eltér az egyenestől. Mezofil fehérjéknél a törés jellegzetesen 30–40°C környékén mutatkozott. A jelenséget a fehérjékben ebben a hőmérséklet tartományban megélelkülő kollektív mozgásokkal interpretáltam, amelyek a triplet állapot addig befagyott dezaktivációs mechanizmusait szabadítják föl. Ez alapján előre jeleztem, hogy termofil fehérjék esetében a törés magasabb hőmérsékleten fog jelentkezni, amit később kísérletileg ki is mutattam (*ábra*) [2].



A foszforeszcencia élettartam rendkívüli érzékenységét használtuk ki Schay Gusztávval, amikor élettartam mérésekre alapozva oxigénkoncentráció meghatározására alkalmazható műanyag alapú szilárdtest szenzort, valamint oxigént felhasználó mikroorganizmusok antibiotikum-érzékenységének meghatározására szolgáló eljárást dolgoztunk ki, melyeket szabadalmaztattunk is.

Egy másik munkában kis hősokk fehérjék ( $\alpha$ -crystallin, HSP16.5) chaperon működésének szerkezeti feltételeit tanulmányoztuk. A Böde Csabával közösen végzett vizsgálatokkal az elterjedt állásponttal szemben kimutattuk, hogy a kis hősokk fehérjék chaperon működéséhez nem szükséges a nagymértékű oligomerizáció. Az oligomerek nyomáskezeléssel kiváltott részleges disszociációjával megnöveltük a fehérje aktivitását. A hatás a szerkezeti perturbáció mértékével mutatott összefüggést. Később kimutattuk, hogy pH sokk által okozott szerkezeti perturbáció – hőmérsékleti sokkhoz hasonlóan – oligomer méret növekedést és szintén chaperon aktivitás erősödést eredményez. Megfigyeléseink arra utaltak, hogy a chaperon működés erősödésének háttérben mindegyik esetben a fehérje mozgásainak élnkülése, a molekula flexibilitásának növekedése áll, ami az oligomer méret és a chaperon aktivitás közötti ellentmondásos kapcsolatot érthetővé teszi [3,4].

Az utóbbi időben a Ca-kötő calbindin D28k fehérjével foglalkoztam. Diákjaimmal kimutattuk, hogy humán fogakban a calbindin nagyobb mennyiségben van jelen a szuvasodás alatti tercier dentinben, mint az ép dentinben. A calbindin molekula szerkezetét tanulmányozva pedig bizonyítékokat gyűjtöttünk arra, hogy a fehérje nem csak Ca tároló, hanem Ca szenzor szerepet is betölthet.

1. Tölgyesi, F., Györgyi, S., Sugár, I. (1985): Effect of monovalent ions on the phase transition behaviour of DPPC-water dispersion, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 128, 263-275
2. Tölgyesi, F., Ullrich, B., Fidy J (1999): Tryptophan phosphorescence signals characteristic changes in protein dynamics at physiological temperatures, *Biochim. Biophys. Acta* 1435, 1-6
3. Böde, Cs., Tölgyesi, F., Smeller, L., K. Heremans, S. Avilov, Fidy, J. (2003): Chaperone-like activity of alpha-crystallin is enhanced by high-pressure treatment, *Biochemical Journal* 370, 1-7
4. Tölgyesi, F., Böde, Cs., Smeller, L., Kim, D.R., Kim, K. K., Heremans, K., Fidy, J. (2004): Pressure activation of the chaperone function of small heat shock proteins, *Cellular and Molecular Biology* 50, 361-369