

### HUSZONÖT ÉVES A SZEGEDI BIOLÓGIAI KÖZPONT

A Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Központjának 25 éves fennállása alkalmából jubileumi ünnepségre, ünnepi tudományos ülésre került sor az SZBK előadótermében 1996. november 26–29-én. ez alkalomból leplezték le az alapító főigazgató, az 1996. február 15-én elhunyt *Straub F. Brunó* szobrát az intézmény előcsarnokában, s a megnyitó ülésen *Láng István* akadémikus tartott előadást „Straub F. Brunó a tudománypolitikus és az SZBK szervezése” címmel. Ezt 46 szakmai előadás követte, jelentős arányban társaságunk tagjainak közreműködésével. Az alábbiakban három, az SZBK keretében biofizikai kutatást művelő intézet/munkacsoport számol be munkájáról.

#### A Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Központjának Biofizikai Intézete

A Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Központja öt intézetének egyike a Biofizikai Intézet. Kutató munkakörben 32 dolgozónk, egyéb munkakörben pedig 21 dolgozónk van. Az egyetemi posztgraduális képzés keretében 6 hallgató készül intézetünkben a PhD fokozat megszerzésére. Részt veszünk az SZBK hagyományos, évenként újrainduló nemzetközi képzési tanfolyamában is, átlagosan évente 2–3 fiatal külföldi végzínálunk kutatásait.

Az intézet igazgatója 1993 végéig *Keszthelyi Lajos* akadémikus volt, azóta pedig *Ormos Pál*. Tudományos fokozattal 19 kutató rendelkezik, ebből egy akadémikus, 7 a tudomány doktora és 11 a tudomány kandidátusa. A kutatók átlagéletkora még mindig alacsonyabb, mint ami például egy egyetemi tanszéken megszokott, hála az SZBK indulásakor, a hetvenes évek elején felvett sok pályakezdőnek.

A Biofizikai Intézet 1995-ben hat kutatócsoportból áll. Ezek fő kutatási irányai a következők:

#### 1. „Membrán bioenergetika” csoport

A legnagyobb, 13 kutatót foglalkoztató csoport. Fő érdeklődési területe a biológiai energiaátalakítás molekuláris szintű vizsgálata. A kutatások az ionok membránon keresztüli aktív transzportjának, az energiaigényes iontranszport fehérjén belüli molekuláris

lépéseinek megértését célozzák. A fény energiájának proton elektrokémiai energiává való átalakítása vizsgálatára a legtöbbet tanulmányozott rendszer a bakteriorodopszin. A csoportban időfelbontásos spektroszkópiai és elektromos mérésekkel azonosítják a proton transzportjához kapcsolódó fehérjeszerkezeti változásokat. Legújabban Fourier transzformációs infravörös és Fourier transzformációs Raman spektroszkópiát használnak egyes fehérje oldalláncok protontranszportban betöltött szerepének tisztázására. A spektroszkópiai és az elektromos technikákat az utóbbi időben sikerrel alkalmazzák Na-K ATP-áz és különböző szervezetek rodopszinja tanulmányozására is.

Az alapkutatói érdeklődés mellett a csoport a fény energiája hasznosításának gyakorlati oldalát is vizsgálja, és a molekuláris elektronika területére is kitekint. További, gyakorlati alkalmazásokkal kecsegtető kutatási irány a biológiailag fontos oligopeptidek konformációs mobilitásának, illetve ezek membrán modellrendszerekben történő stabilizációjának a vizsgálata.

## **2. „Membránok molekuláris dinamikája” csoport**

A csoport fő érdeklődési területe a lipidek molekuláris dinamikája a membránfehérjék környezetében. A fehérjék és lipidek eltérő hidrodinamikai mérete miatt a köztük lévő határretegűl távolodva a lipidmozgékonyosság grádiense alakul ki, és ennek megfelelően a lipidek szolvatációs rétegekbe rendeződnek. Az ESR spektroszkópia és a spinjelölés technikája optimális érzékenyséű a fluid és a mozgásukban korlátozott, szolvatációs lipidek megkülönböztetésére. Az ESR alkalmas a lipid deszaturáció és a peptidszekvencia szerepének tisztázására rekonstituált rendszerekben is.

Az emlős, növényi, vagy bakteriális plazmamembránokban fellelhető redox rendszerek kutatása szintén a csoport profiljába tartozik. A cél ilyen redox rendszerek tisztítása, jellemzése és funkciójának meghatározása. A fő megválaszolendő kérdések arra irányulnak, hogy a plazmamembrán redox folyamatai milyen szerepet tölthetnek be a membrán energizálása, a sejtnövekedés és annak szabályozása, és a vas felvétele folyamataiban.

## **3. „Fotoszintetikus pigmentek és membránok vibrációs spektroszkópiája” csoport**

Rezonancia Raman és felületerősített Raman spektroszkópia segítségével a csoport fotoszintetikus pigmentek, és különösen a cianobaktériumok fénybegyűjtő komplexéből származó fikobiliproteinek szerepét vizsgálja a fényenergia hasznosításban. Ezen fehérjék fényelnyelő és emittáló tulajdonságai a kromofórjuk konformációjától, illetve a kromofór és a fehérje kölcsönhatásától függnnek, és ezeknek döntő befolyásuk van a magasfokon szervezett fikobiliszómák működésében. Egy másik kutatási irányként Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia segítségével zsírsavak szelektív deuterálását követően biológiai membránok lipidjeit és specifikus lipid régióit tanulmányozzák.

## **4. „Hidrogén biológia” csoport**

A csoport a mikroorganizmusokban lejátszódó hidrogén anyagcsere egyes kérdéseit tanulmányozza. A hidrogenáz enzimek a molekuláris hidrogén kialakulását és lebomlását katalizálják, és mint ilyenek, alapvető bioenergetikai szerepet töltenek be a széndioxid,

nitrogén, nitrát, szulfát stb. biológiai redukálásához szükséges redukáló ágens előállításával.

A hidrogenázok lokalizációja, orientációjuk meghatározása a fotoszintetikus membránban az első feladat. A hidrogenázok jellemzésére felhasznált technikák a molekuláris biológia általánosan használt módszerei mellett magukba foglalják az ESR, ENDOR, Mössbauer, EXAFS és röntgen abszorpciós és emissziós spektroszkópiát, különböző hazai és külföldi kutatóhelyekkel való együttműködésben. A csoport a vas-kén kofaktor redox állapota és a fehérjeszerkezet közti összefüggéseket vizsgálja, illetve az aktív centrum fehérjén belüli elhelyezkedését. Különböző szervezetekből származó hidrogenázok homológiájának felismerésével a funkcióhoz szükséges szekvenciadarabokat keresik, és evolúciós összefüggéseket is kutatnak.

A hidrogenázok biotechnológiai alkalmazása, úgymint a biológiai napenergiahasznosítás és a szemét-, illetve szennyvízfelhasználás szintén a csoport érdeklődési körébe tartozik.

## **5. „Növényi stressz-élettan és transzport” csoport**

A természeti környezet romlása az emberi civilizáció beavatkozása miatt változatos stresszhatásoknak teszi ki a Föld természetes növénytakaróját és a természetett növényeket egyaránt. A csoport korábbi, a növényi iontranszport kutatásában szerzett tapasztalataira alapozva többféle környezeti stresszhatás következményeit vizsgálja növényeken. Ezek a tápanyag (pl. foszfor, vas, kalcium) megvonása, a só- és szárazságtűrés mechanizmusa, ipari szennyezőanyagok, pl. kadmium felvétele, eloszlása és hatása a membrántranszport és redox folyamatokra. Ugyancsak foglalkozik a laboratórium a vékonyodó légköri ózonszint miatt megnövekedett UV-B sugárzás hatásával elsősorban enzimatisz szinten, és vizsgálja az antioxidánsok elleni növényi védekező mechanizmusokat.

## **6. „Molekuláris neurobiológia” csoport**

A laboratórium elsősorban az elektronmikroszkóp által kínált lehetőségeket kihasználva morfológiai alapon tanulmányozza az idegrendszer működését molekuláris szinten. A csoport érdeklődési körébe tartoznak olyan alapvető idegéletani kérdések, mint a szinaptikus ingerületátvitel tér- és időbeli komponensei, és az átvitellel kapcsolatos morfológiai változások, valamint ezek kóros megjelenési formái, az idegsejt szintű formai jellemzők (plaszticitás), valamint azok a molekuláris mechanizmusok, melyek a központi idegrendszer működéséhez szükséges megfelelő környezet fenntartásához járulnak hozzá.

Tanulmányozzák a szinaptikus vezikulák szerepét az idegvégződésnél a kalcium homeosztázis szabályozásában. Két dimenziós elektron-spektroszkópiai képalkotás segítségével megfigyelhető, hogy egyes sejtszervecskék, mint pl. a szinaptikus vezikulák, a mitokondriumok, a sima endoplazmatikus retikulum, kalciumot tárolhatnak elektromos ingerlés után vagy a regenerációs fázisban. Ismeretes, hogy egyes nemi hormonok befolyással vannak az idegrendszeri kapcsolatok rendszerére. A csoport arra utaló jeleket tapasztalt, hogy az östradiol hatása abban nyilvánul meg, hogy módosítja az idegrendszeri membránok felszínén a sejtdhéziós molekulák kifejeződését. A vér-agy gát hosszabb ideje történő vizsgálata során a laboratóriumban bebizonyították egy kalcium/kalmodulin

függő protein kináz II jelenlétét az agyi endotél sejtekben immunhisztokémiai és mRMS in situ hidridizációs technikával.

A Biofizikai Intézetben külön műszerfejlesztő csoport is működik. A csoport feladata egyrészt műszerek célirányos fejlesztése és készítése, másrészt a meglévő műszerpark karbantartása, javítása. A csoport mind analóg, mind digitális szabályozó, erősítő, időzítő, mintavételező és tároló készülékeket állított és állít elő, továbbá kereskedelmileg kapható műszerek illesztésében, számítógépes vezérlésében van segítségünkre.

Az intézet kiterjedt nemzetközi kapcsolatrendszerrel rendelkezik. Hosszú külföldi munkavállaláson, tanulmányúton általában a kutatók 20–30%-a tartózkodik. A szűkös hazai források mellett létkérdés a külföldi pályázatok, szerződések elnyerése. Jelenleg 11 a szerződéssel támogatott nemzetközi együttműködések száma az intézetben.

ZIMÁNYI LÁSZLÓ

## **A MTA Szegedi Biológiai Központja Növénybiológiai Intézetének fotoszintézis munkacsoportjai**

A fotoszintézis a földi élet energetikai alapja, melyből közvetve vagy közvetlenül a bioszféra lényegében valamennyi élőlénye táplálkozik. A fotoszintézisnek köszönhető a Föld oxigénben gazdag légkörének kialakulása (beleértve az ózon pajzsot is), illetve annak folyamatos egyensúlyban tartása is. A fotoszintézis CO<sub>2</sub> megkötése révén lehetséges az üvegházhatás egyensúlyban tartása. A fotoszintézis kutatások elsősorban a napfény kémiai energiává alakítása mechanizmusának megismerésére irányulnak, mely kutatások az alternatív energiaforrások feltárása szempontjából is jelentősek. Fontos azon komplex hatásmechanizmusok vizsgálata is, amellyel a fotoszintetikus apparátus környezeti tényezőkre válaszol és ezzel visszahat szűkebb vagy tágabb környezetünkre.

Az MTA SZBK Növénybiológiai Intézetében folyó fotoszintézis kutatások a fotoszintézis fotofizikai és fotokémiai folyamatainak jobb megértését célozzák és a környezeti stressz tényezőkre adott fiziológiás válaszok mechanizmusának leírására, illetve különböző – a primér folyamatokat érintő – regulációs folyamatok élettani szerepének tisztázására irányulnak. Ezek a kutatások alapvetően multidiszciplináris jellegűek, melyben a modern biokémia és molekuláris biológia módszerei nélkülözhetetlenek. Mindazonáltal, a kutatók döntő hányadában a biofizikai módszerek kulcsfontosságúak. A munkacsoportok mindegyikében jelentős szerepet kapnak a fény-spektroszkópiai vizsgálati módszerek: abszorpciós és fluoreszcencia emisszió, lineáris és cirkuláris dikroizmus, termolumineszcencia, késleltett fluoreszcencia, klorofill fluoreszcencia indukciós kinetika, flash-spektroszkópia. Jelentősek továbbá a mélyhőmérsékletű (4 K) és szobahőmérsékletű ESR vizsgálatok, a villanófény és folyamatos fény segítségével végzett polarográfiás mérések, a fotoszintetikus membránok elektromos és mágneses jellemzőinek vizsgálata. Ezen vizsgálati módszereket jól kiegészítik az elektronmikroszkópiás és konfokális lézersugár pásztázó mikroszkópos technikák. Fontosak a nemzetközi együttműködések keretében folyó ultragyors (ps) spektroszkópiai vizsgálatok is.

A Növénybiológiai Intézet Fotoszintézis Munkacsoportjai több területen együttműködnek az SZBK Biofizikai Intézetével és több hazai biofizikai műhellyel. Az intézet munkacsoportjai részt vesznek az Európai Tudományos Alap (European Science Foundation) „Biophysics of Photosynthesis” Programjában, s így gyümölcsöző együttműködési programokat ápolnak élenjáró európai biofizikai laboratóriumokkal. Több észak-amerikai és japán egyetemmel és kutatóintézettel is együttműködnek.

## **Membrán-energizációs laboratórium**

### *1. A pigment-protein komplexek makroorganizációja*

A munkacsoport elsőként szolgáltatott bizonyítékot arra, hogy a kloroplasztisz tilakoid membránjainak antenna komplexei királisan szervezett makrodoméneket alkotnak, melyek átmérője és királis paraméterei a fény hullámhosszával összemérhetők. Kimutatták, hogy a makrodomén-szerveződésben a klorofill a/b fénybegyűjtő komplex (LHCII) döntő szerepet játszik, és hogy ez a komplex maga is alkot királisan szervezett makroaggregátumokat. Kísérleti bizonyítékot szolgáltatott arra, hogy az LHCII makroaggregátumokban a gerjesztési energia nagy távolságokra vándorolhat, vagy közvetlenül nagy doménekre delokalizálódik.

Nemrégiben sikerült kimutatniuk, hogy a királisan szervezett makrodomének megfelelő strukturális flexibilitással rendelkeznek, amely a komponensek egyikének sem sajátja. Egy új, részleteiben még nem jellemzett, fotofizikai mechanizmus révén a makrodomének képesek strukturájukat a fényintenzitás függvényében reverzibilisen változtatni. Ennek következtében változnak a makrodoménekeken belüli fotofizikai reakcióutak is. Ez utóbbi vélhetőleg fontos szerepet játszik fényadaptációs folyamatokban.

Ezen vizsgálatok arra is irányulnak, hogy jól karakterizált fotoszintetikus rendszerek, mint modellrendszerek, tanulmányozásával hozzájáruljunk a magasán szervezett nagyméretű aggregátumok rendhagyó spektrális és funkcionális sajátosságainak megértéséhez. Ilyen makroaggregátumok nagy gyakorisággal fordulnak elő biológiai rendszerekben (pl. DNS- vagy fehérje-makroaggregátumok, kromoszómák, vírusok stb.), de elméleti és kísérleti leírásuk kezdetleges stádiumban van.

### *2. A membránlipidek szerepe extrém környezeti hőmérsékletek tűrésében*

Nemzetközi együttműködés keretein belül Gombos Zoltán és munkatársai – transzgenikus cianobaktériumok segítségével – elsőként szolgáltatott bizonyítékot arra, hogy a zsírsavak telítettségi szintje fontos szerepet játszik a hőmérsékleti stressz reakciókban. Ezek a jelenleg is folyó szisztematikus vizsgálatok a hőmérsékleti adaptáció megértését célozzák, és ezért rendkívül fontos biotechnológiai alkalmazásokat tárhatnak fel.

### *3. Klororespiráció*

A munkacsoportban elsőként bizonyították, hogy magasabb rendű növények kloroplasztisaiban egy légzési elektrontranszport lánc, klororespiráció, is működik, amely szoros kölcsönhatásban áll a fotoszintetikus elektrontranszport láncsal. Vizsgálataik a klororespiráció komponenseinek és fiziológiai jelentőségének feltárására irányulnak.

#### *Vezetők kutatók:*

Garab Győző, tud. tanácsadó, a laboratórium vezetője  
Gombos Zoltán, tud. fmts.  
Mustárdy László, tud. fmts.

#### *Munkatársak:*

Barzda, Virginius, ITC (International Training Course) ITC ösztöndíjas  
Istókovics Anita, tud. smts.  
Lajkó Ferenc, tud. mts.  
Liker Erika, tud. mts.  
Simidjiev, Ilian, ITC ösztöndíjas  
Szalmáné Katona Gyöngyvér, laboratóriumi asszisztens  
Zsíros Ottó, PhD hallgató

### **Molekuláris stressz- és fotobiológiai csoport**

#### *Munkatársak:*

Vass Imre, tud. tanácsadó, csoportvezető  
Hideg Éva, tud. főmunkatárs  
Deák Zsuzsanna tud. munkatárs  
Cornelia Spetea, ITC hallgató  
Sass László, tud. munkatárs  
Máté Zoltán, PhD hallgató

A csoport fő érdeklődési területe a fény és a fotoszintetikus működés összefüggéseinek vizsgálata, mely egyaránt magában foglalja a fényindukált elektron transzport folyamatainak és a fénystressz okozta károsodás hatásmechanizmusának tanulmányozását, az alábbi témák köré csoportosítva:

1. *A kettes fotokémiai rendszer szerkezete és működése:* Valamennyi magasabb rendű növény, valamint többféle fotoszintetizáló baktérium és cianobaktérium is, a víz molekuláris oxigénné történő bontása közben keletkező elektronokat hasznosítja a fotoszintetikus elektron transzport során. A vízbontás egy kb. húsz proteiből szervezett pigment-protein komplexben (kettes fotokémiai rendszer) történik, és részleteinek megismerése, különösen az ún. D1 protein egyes amino sav oldalláncainak szerepe, a fotoszintézis kutatás egyik fontos aktuális kérdése. Megválaszolásához különböző, pont- és deléciós mutációkkal genetikailag megváltoztatott D1 proteinű cianobaktériumok elektron transzportjának biofizikai (oxigén polarográfiai, fluoreszcencia és termolumineszcencia) vizsgálatai segítenek hozzá [1].

2. *Fotoinhibíció:* A fény a fotoszintézis hajtóereje, de a fotoszintetikus elektron transzport feldolgozó kapacitását meghaladó mennyiségű fényenergia káros. Megállapítást nyert, hogy a fotoinhibíció elsődleges hatása a kettes fotokémia rendszer kinon akceptorának (QA) rendelenes, redox funkciók ellátására képtelen redukciója, amely elősegíti a reakció centrum klorofill tripllett állapotának kialakulását [2]. Ez utóbbi, utóbbi

molekuláris oxigénnel reagálva szingulett oxigén keletkezéséhez vezet [2,3]. A jelenlegi vizsgálatok célja a fotoinhibíció hatásmechanizmusának tanulmányozása sérült vízbontó rendszerű mintákban.

3. *UV-B sugárzás:* A sztratoszférikus ózonréteg vékonyodása következtében növekszik a Föld felszínét, és így a növényeket érő UV-B (280-320 nm) sugárzás intenzitása. Ez csökkenti a fotoszintetikus elektron transzportot, elsősorban a kettes fotokémiai rendszer aktivitását [4], inaktíválja annak kulcsfontosságú redox komponenseit [5] és szelektíven károsítja a reakció centrum protein szerkezetét [6,7]. A jelenleg is folyamatban levő vizsgálatok azt mutatják, hogy az irreverzibilis károsodás fontos eleme a károsodott protein helyreállításának UV-B okozta gátlása. Ennek vizsgálata mellett, a csoport különböző UV-B érzékenységet genetikai modell növények (*Arabidopsis thaliana*) és szőlő fajták biofizikai-biokémiai jellemzésével is foglalkozik.

4. *Környezeti stressz okozta aktív oxigén képződés:* A fotoszintetikus elektron transzport környezeti stressz hatások (fotoinhibíció, UV-B, alacsony vagy magas hőmérséklet) okozta működési zavara elősegítheti az aktív oxigén, szingulett oxigén és oxigén szabad gyökök képződését. Ez a protein szerkezet, a pigmentek és a tilakoid membrán oxidatív károsodását okozza, amit a természetes körülmények között jól működő védekező rendszerek stressz okozta aktivitáscsökkenése is elősegít. ESR spektroszkópiával, gyök csapdák segítségével sikerült ezeket az aktív oxigén formákat közvetlenül kimutatni és azonosítani [8,9], ami fontos lépés a stresszhatások károsító mechanizmusának pontos leírása felé.

5. *Kiszáradástűrő zúzmók fotoszintézisének vizsgálata:* Egyes zúzmó és moha fajok képesek arra, hogy hosszú kiszáradást követő újrantedvesítés során helyreállítsák fotoszintetikus vízbontó képességüket. A folyamat membrán biofizikai hátterének jellemzése önmagában is érdekes kihívás [10]. Érdeklőségük mellett a vizsgálatok jelentőségét az adja, hogy ezek a növények igen érzékenyek bizonyos környezeti stressz hatásokra. Ez felveti annak lehetőségét, hogy elektron transzportjuk vizsgálatával korai stressz indikátorokként kerüljenek alkalmazásra.

#### Válogatott közlemények:

1. Vass, I., Cook, K. M., Deák, Zs., Mayes, S. R. and Barber, J. (1992) *Biochim. Biophys. Acta* 1102, 195–210.
2. Vass, I. and Styring, S. (1992) *Biochemistry* 31, 5957–5963.
3. Vass, I., Styring, S., Hundal, T., Koivuniemi, A., Aro, E.-M. and Andersson, B. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 1408–1412.
4. Hideg, É., Sass, L., Barbato, R. and Vass, I. (1993) *Photosynth. Res.* 38, 455–462.
5. Vass, I., Sanakis, Y., Spetea, C. and Petrouleas, V. (1994) *Biochemistry* 34, 4434–4440.
6. Friso, G., Spetea, C., Giacometti, G. M., Vass, I. and Barbato, R. (1994) *Biochim. Biophys. Acta* 1184, 78–84.
7. Friso, G., Vass, I., Spetea, C., Barber, J. and Barbato, R. (1995) *Biochim. Biophys. Acta*, in press.
8. Hideg, É., Spetea, C. and Vass, I. (1994) *Photosynth. Res.* 39, 191–199.
9. Hideg, É., Spetea, C. and Vass, I. (1994) *Biochim. Biophys. Acta* 1186, 143–152.
10. Sass, L., Csintalan, Zs., Tuba, Z. and Vass, I. (1995) submitted to *Photosynth. Res.*

GARAB GYŐZŐ

## Biofizikai kutatások az MTA SZBK Enzimológiai Intézetében

Az MTA SZBK Enzimológiai Intézetében a hatvanas évek eleje óta folynak biofizikai kutatások és oktatás. Jelenleg az intézet *Závodszy Péter* és *Simon István* vezette csoportjai dolgoznak ezen a területen.

Závodszy Péter csoportjában, melyet többségében fizikus és vegyész szakemberek alkotnak, fehérjefizikai kutatások, molekuláris immunológiai munka és a bakteriális flagellumok szerkezetének tanulmányozása folyik.

A fehérjefizikai vizsgálatok elsősorban a proteinek stabilitását meghatározó kölcsönhatásokra, a fehérjék önszerveződésére, és az önszerveződés során kialakuló átmeneti állapotokra irányulnak. Számos olyan mikroorganizmust ismerünk, amely szélsőséges környezeti feltételek között is képes életfolyamatait fenntartani és szaporodni. A megfigyelések szerint a szélsőséges környezeti feltételekhez való alkalmazkodásban lényeges szerepet játszik a molekuláris szintű adaptáció. Mélytengeri hőforrásokban, 90 °C körüli hőmérsékleteken élő, ún. termofil baktériumokból pl. számos olyan fehérjét izoláltak, amely nagyfokú szerkezeti homológiát mutat a nem hőtűrő, mezofil szervezetekből izolált, azonos funkciójú fehérjével, termikus stabilitása azonban jóval magasabb. Az ilyen fehérjék olvadáspontja (denaturációs hőmérséklete) a 100 °C-ot is meghaladhatja. Ennek a különleges hőstabilitásnak a szerkezeti hátteréről azonban még keveset tudunk. Laboratóriumunkban több hőtűrő enzimváltozattal foglalkozunk, így a szénsav anhidráz, a laktát dehidrogenáz, a gliceraldehyd-3-foszfát dehidrogenáz és az izopropil-malát dehidrogenáz hőtűrő változataival. Összehasonlító fizikai-kémiai, termodinamikai vizsgálatokkal, számítógépes modellezéssel, fehérjetervezéssel, és módosított fehérjék génszintézeti úton történő előállításával próbáljuk megfejteni a termikus stabilitás hátterében álló fizikai tényezőket, szerkezeti sajátosságokat.

Vizsgálataink szerint a hőstabilis enzimváltozatok szobahőmérsékleten kevésbé aktívak, mint a mezofil enzimváltozatok. Ennek oka feltehetően a hőstabilis fehérje nagyobb fokú merevsége, a csökkent flexibilitás. A csökkent flexibilitást hidrogén-deutérium izotópkicserélődési mérésekkel igazoltuk. Számítógépes módszerek segítségével felépítettük a gliceraldehyd-3-foszfát dehidrogenáz hőstabilis változatának és az izopropil-malát dehidrogenáz mezofil változatának térszerkezetét. Összehasonlító vizsgálataink szerint a termikus stabilitás növelésében a hidrofób kölcsönhatások mellett lényeges szerepet játszanak egyes specifikus kölcsönhatások, így a fehérje felszínén található ionpárok.

A fehérjék önszerveződésének, a „folding”-nak a folyamatát vizsgálva kimutattuk, hogy a humán IgG molekula Fc fragmentumának létezik termikus és savas intermedier állapota. Ennek az ún. „olvadt gombóc” (molten globule) típusú átmeneti állapotnak a részletesebb jellemzése, a domének közötti kölcsönhatások szerepének vizsgálata jelenleg folyik.

A fehérjék termodinamikai jellemzésében DASM-4 típusú adiabatikus pásztázó mikrokcaloriméterünknek vesszük hasznát. A hidrogén-deutérium izotópkicserélődési méréseket modern, Bruker típusú Fourier-transzformációs infravörös spektrofotométerünkkel végezzük. A molekulák mind teljesebb jellemzéséhez rendelkezésünkre áll optikai és CD-spektroszkópia és fluoreszcenciaspektroszkópia (Jasco műszerek), analitikai ultra-

centrifuga, és természetesen a szokásos enzimológiai és fehérjeanalitikai módszerek (gélelektroforézis, kromatográfia, aktivitásmérés). A számítógépes modellezést egy Silicon Graphics munkaállomáson végezzük, a Biosym programcsomag (modellezés, molekula-mechanika, molekuladinamika) segítségével.

Molekuláris immunológiai munkánkban a komplementrendszer aktiválódásának vizsgálatával foglalkozunk. A komplementrendszer a humorális immunválasz fontos eliminációs mechanizmusa. A klasszikus úton történő aktiválását az első komponens, a C1 végzi immunkomplexek hatására. A C1 öt alegységből (1 C1q, 2 C1r és 2 C1s) álló fehérje. Munkánkban a szupramolekuláris komplex szerkezetét és aktiválódásának molekuláris szintű mechanizmusát vizsgáljuk.

A probléma megközelítésére génszabási úton módosított C1r és C1s expresszióját és a termelt fehérjék sajátosságainak a vad típusúakéval való összehasonlítását választottuk. Erre lehetőséget teremtett, hogy a már korábban kifejeztük az emberi C1r-t és C1s-t bakulovírus-rovarsejt expressziós rendszerben. Megkönnyítette az ilyen kísérleteket az is, hogy a C1r és C1s egymással homológ, azonos modulszerkezetű mozaikfehérjék. A szerinproteáz katalitikus domén mellett öt-öt N-terminális szabályozó modul tartalmaznak. Ezért készíthetők viszonylag egyszerűen deléciós mutánsok és C1r–C1s hibrid molekulák a fehérjeszerkezet megzavarása nélkül. Célunk a módosított, expresszált fehérjék biokémiai és biofizikai vizsgálatával az egyes domének szerepének azonosítása, így a C1 szerveződés és működés megismerése. Érdekes eredmény volt pl. annak megállapítása, hogy a proteáz katalitikus modul C1r, vagy C1s-szerű specificitását a nemkatalitikus modulok határozzák meg.

A csoporton belül *Vonderviszt Ferenc* vezetésével a baktériumok mozgásával kapcsolatban folyik kutatás. Ismeretes, hogy a bakteriális flagelláris filamentumok többféle diszkrét, stabil szerkezeti állapottal rendelkező önszerveződő szupramolekuláris rendszerek. Képesek szerkezeti és funkcionális tulajdonságaikat a környezeti körülményeknek megfelelően módosítani. Kutatásaink célja azon molekuláris mechanizmusok megértése, amelyek a bakteriális flagellumok önszerveződő képességének, polimorfizmusának hátterében állnak.

Limitált proteolízis, nagyfelbontású H-NMR, valamint pásztázó mikroklorimetria kombinált alkalmazásával kimutattuk, hogy a flagelláris filamentumokat felépítő axiális fehérjék monomer állapotban kiterjedt rendezetlen terminális régiókkal rendelkeznek. Filamentumokká való polimerizációjuk során az axiális fehérjék rendezetlen régiói stabilizálódnak, röntgendiffrakciós vizsgálataink és CD spektroszkópiás megfigyeléseink szerint alfa-helikális kötegeket alkotva rendeződnek. Terminálisan csonkított fragmentumokkal végzett polimerizációs kísérleteink rávilágítottak arra, hogy a rendezetlen terminális régiók nagy része nem játszik meghatározó szerepet a filamentáris szerkezet kialakításában. Ezek a régiók elsősorban az axiális fehérjék kompakt szerkezeti doménjei közötti kölcsönhatások révén kialakított filamentumok stabilizálásában, aggregációs képességük szabályozásában fontosak.

A rendezetlen molekuláris részek pontos szerepének tisztázása céljából génszabási és fizikai vizsgálatokat végzünk a flagellumok helikális filamentumait alkotó flagellin fehérjén. Célzott aminosavcserékkel kívánjuk azonosítani azokat a szegmenseket, amelyek kiemelkedő fontosságúak az aggregációs képesség és a polimorfizmus szabályozásában.

*Simon István* csoportja különböző elméleti módszerek kidolgozásával és felhasználásával foglalkozik, széles nemzetközi együttműködés keretében. Valamennyi munka közös alapja a fehérje szekvencia és adatbázisok statisztikus elemzése. Ehhez az itthoni munkához kapcsolódnak a nagyobb számítógép kapacitást, vagy az együttműködők speciális szakismereteit igénylő munkák, melyeket nagyrészt szintén a csoport tagjai végeznek külföldi tartózkodásaik során.

Az elmúlt években rámutattak arra, hogy az aminosavak egymás szekvenciális közelségében való előfordulása nem véletlenszerű. Jellemezték a nem random jelleg mértékét és azt, hogy a szekvenciális távolsággal hogyan „cseng le” ez a nem véletlen pár gyakoriság. A szekvenciák vizsgálatára a közelmúltban kidolgoztak egy fraktálgeometrián alapuló „chaos game” reprezentációt is. Egy másik munkában pedig arra mutattak rá, hogy az adatbázis drasztikus növekedése, pl. az áttérés a fehérje szintű szekvenálásról a cDNS szintűre hogyan befolyásolja a statisztikai módszerekkel kidolgozott predikciós eljárások érvényességét. Maguk is több predikciós eljárást dolgoztak ki pl. a multidomén fehérjék doménhatárainak, a diszulfid kötésben résztvevő ciszteinek, illetve az ún. hosszútávú kölcsönhatásokban résztvevő aminosavaknak a szekvenciából történő becslésére. A szekvencia analízis eredményeit felhasználták egy fehérje térszerkezetének konformációs energia számításával történő meghatározásához is. Az aminosavak nem véletlenszerű pár és triplet gyakoriságának, illetve az ebből származtatható entrópia jellegű mennyiségek meghatározásával az aminosavak hasonlósági relációinak felderítésére kidolgoztak két egymástól és mások hasonló célú eljárásaitól független módszert. Ezek többek között a fehérje tervezésben és alacsony homológiájú, távoli rokonságban levő, fehérjék szekvencia illesztésekor használhatók fel. Ilyen speciális szekvencia illesztéssel sikerült egyetlen membránkötött fehérje röntgendiffrakciós képének felhasználásával több távoli rokon fehérje transzmembrán szakaszait meghatározni, többek között olyanokét, amelyeknél a transzmembrán szakaszok azonosítása farmakológiai szempontból is fontos. Végül egy a csoportban kidolgozott eljárással azonosították a fehérjék repetitív szekvencia elemeit és ezekkel információkat lehetett nyerni a fehérjék korai evolúciójának egyes mozzanataira. Ugyanakkor a repetitív szekvenciák vizsgálata a humán gyógyászat szempontjából is fontos, mert ezek számos örökletes rendellenességgel kapcsolatosak.

A jelenleg folyó, illetve közlés alatt álló munkák közül lényegesek a szekvenciálisan távoli aminosavak ún. hosszútávú kölcsönhatásainak vizsgálata. Ezekről megállapították, hogy számuk első közelítésben arányos a fehérje méretével, de extracelluláris fehérjékben kimutathatóan több van belőlük, mint a védettebb körülmények között levő intracelluláris fehérjékben. Eloszlásuk a térszerkezetben olyan inhomogenitást mutat, ami szintén lényeges lehet a fehérje stabilitása szempontjából. Amerikai kollaborációban folyik az a több éve tervezett munka, amelyben a hosszútávú kölcsönhatásokra a szekvenciából nyerhető információkat beépítik a konformációs energia számításával történő térszerkezet meghatározásba. Angol, illetve francia együttműködéssel befejezéshez közeledik az egyes aminosavaknak a fehérje stabilitásával összefüggő evolúciós konzervatívizmusának vizsgálata, illetve további transzmembrán fehérjék, köztük a humán rodopszin szerkezetvizsgálata. Izraeli kutatókkal olyan extrém ritka, az emberi fehérjékben elő nem forduló immundo-mináns oligopeptidek tervezésén dolgoznak, amelyek oltóanyagok potenciális adjuvánsai lehetnek. Olasz kollaborációban folytatják a repetitív szekvencia motívumok vizsgálatát és egy olasz, francia, izraeli és magyar együttműködésben egy a szekvenciák komplexi-

tásán alapuló, a jelenleg ismert szekvencia illesztési eljárásoknál lényegesen érzékenyebb módszer kifejlesztésén dolgoznak. Végül a csoportban jelenleg is folyik az új predikációs eljárások kifejlesztése és a régebbiek továbbfejlesztése.

*A munkákkal kapcsolatos néhány közlemény:*

- Vonderviszt, F., Lakatos, S., Gál, P., Kilár, F., Sárvári, M., Závodszy, P.  
*A „Molten globule”-like unfolding intermediate of a four domain protein, the Fc fragment of the IgG molecule.*  
*Biochem. Biophys. Res. Comm.* **148**, 82–98 (1987)
- Jaenicke, R. & Závodszy, P.  
*Proteins under extreme physical conditions.*  
*FEBS Letters* **268**, 344–349 (1990)
- Szilágyi, A. & Závodszy, P.  
*Structural background for the extreme thermostability of D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from Thermotoga maritima. Analysis based on homology modelling.*  
*Prot. Eng.* (1995) közlésre elfogadva
- Lio, Ch., Thielens, N. M., Gagnon, J., Gál, P., Sárvári, M., Tseng, Y., Tosi, M., Závodszy, P., Arlaud, J. G., Schumaker, V. N.  
*Recombinant human complement C1s lacking  $\beta$ -hydroxy asparagine, sialic acid and one of its two carbohydrate chains, still reassembles with C1q and C1r to form a functional C1 complex.*  
*Biochemistry* **31**, 4254–4262 (1992)
- Závodszy, P., Gál, P., Cseh, S., Schumaker, V. N.  
*Protein Engineering Studies on Complement Proteins C1r and C1s*  
*Behring Inst. Mitt.* **93**, 127–142 (1993)
- Gál, P., Cseh, S., Schumaker, V. N., Závodszy, P.  
*The Structure and Function of the First Component of Complement: Genetic Engineering Approach (a review)*  
*Acta Microbiologica et Immunologica H.* **41**, 361–380 (1994)
- Namba, K., Yamashita, Y. & Vonderviszt, F.  
*Structure of the core and central channel of bacterial flagella.*  
*Nature (London)* **342**, 648–654. (1989)
- Vonderviszt, F., Aizawa, S.-I. & Namba, K.  
*Role of the disordered terminal regions of flagellin in filament formation and stability.*  
*J. Mol. Biol.* **221**, 1461–1474 (1991)
- Vonderviszt, F., Ishima, R., Akasaka, K., & Aizawa, S.-I.  
*Terminal disorder: a common structural feature of the axial proteins of bacterial flagellum?*  
*J. Mol. Biol.* **226**, 575–579 (1992)
- Vonderviszt, F., Závodszy, P., Ishimura, M., Uedaira, H. & Namba, K.  
*Structural Organization and Assembly of Flagellar Hook Protein from Salmoella typhimurium.*  
*J. Mol. Biol.*, (1995) közlésre elfogadva.
- Simon, I. & Cserző, M.  
*„Rapid Evolution” of the Amino Acid Composition of Proteins.*  
*Trends Biochem. Sci.* **15**, 135 (1990)
- Simon, I., Glasser, L. & Scheraga, H. A.  
*Calculation of Protein conformation as an Assembly of Stable Overlapping Segments: Application to Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor.*  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 3661 (1991)
- Cserző, M., Bernassau, J.-M., Simon, I. & Maigret, M.  
*Unusual Alignment Strategy for Trans-membrane Proteins.*  
*J. Mol. Biol.* **243**, 388 (1994)

ZÁVODSZKY PÉTER

## AZ ORSZÁGOS „FRÉDÉRIC JOLIJOT-CURIE” SUGÁRBIOLÓGIAI ÉS SUGÁREGÉSZSÉGÜGYI KUTATÓ INTÉZET NEM-IONIZÁLÓ SUGÁRZÁSOK ÖNÁLLÓ OSZTÁLYA

Az Országos „Frédéric Joliot-Curie” Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézetben a hetvenes évek végén kezdődött meg a nem-ionizáló sugárzások biológiai és egészségre gyakorolt hatásainak kísérletes kutatása az akkori Molekuláris Sugárbiológia osztályon. Mivel a nyolcvanas években egyre nagyobb szerepet kapott a nem-ionizáló sugárzások kutatása – egy átszervezést követően – 1989-től ez már az Osztály új nevében is tükröződik. Feladata kettős: egyrészt a nem-ionizáló sugárzások teljes spektrumában végez helyszíni méréseket és szakvéleményezést az ország egész területén, mint az Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat bázisintézete, másrészt végzi a nem-ionizáló sugárzások biológiai és egészségre gyakorolt hatásainak kísérletes vizsgálatát és résztvesz a hazai szabályozók kidolgozásában. Az elmúlt években vizsgált elektromágneses sugárzások, illetve terek felölelik a nem-ionizáló sugárzások szinte teljes spektrumát az ultravioleta (UV) sugárzásoktól – a mikrohullámú (MW) és rádiófrekvenciás (RF) sugárzásokon át egészen az extrém alacsony frekvenciájú (ELF) mágneses terekig.

Az alábbiakban sugárzás fajtánként tekintjük át az elmúlt több mint 15 év kutatómunkájának rövid történetét.

### *Mikrohullámú sugárzás:*

Elsőként a mikrohullámú sugárzás biológiai hatásainak kísérletes vizsgálata kezdődött meg csirke embriókon. Vizsgáltuk a keltetés alatt különböző dózisu mikrohullámú sugárzással kezelt csirke embriók túlélési adatait és mértük az embriók agyából és májából izolált aminoacil-tRNS szintetáz – tRNS rendszer, illetve a laktát dehidrogenáz aktivitását.

1985-től kezdődtek meg az elektrofiziológiai mérések altatott patkányokon, amellyel a folyamatos (CW) mikrohullámú sugárzás központi idegrendszerre gyakorolt hatását vizsgáltuk. Méréseinkben a központi idegrendszeren és a kardiorespiratorikus rendszeren egyidejűleg több modalitást vizsgáltunk rögzítettük az állatok EKG, EEG, REO jeleit és testhőmérsékletét a mikrohullámú besugárzás előtt, alatt és után. 1990-től kísérleti technikánk tökéletesítése lehetővé tette egyrészt az éber állatokon történő poligráfias méréseket, másrészt a vizsgálatok kiterjesztését az amplitudó modulált mikrohullámok tartományára is. A 90-es évek elejétől elterjedőben lévő digitális mobil rádiótelefonok kapcsán jelenleg a impulzus modulált (217 Hz) mikrohullámú sugárzás központi idegrendszerre gyakorolt hatásának vizsgálata kiemelt jelentőségű. Kidolgoztuk a vizuálisan kiváltott potenciál (VEP) mérések alkalmazását a fenti modalitások hatásainak vizsgálatára.

A fenti biológiai kísérletek mellett már a kezdetektől nagy hangsúlyt fektettünk a mikrohullámú sugárzás dozimetriájának kidolgozására. Kezdetben csőtápvonalban, illetve egyedileg kialakított besugárzó kamrákban határoztuk meg az objektumban elnyelt mikrohullámú energiát. Az ún. távolféri besugárzásokhoz mikrohullámú szempontból visszahangmentes szobát építettünk. Későbbiekben szövetekvivalens fantomokban meghatároztuk a lokálisan elnyelt dózist és annak eloszlását.

### *Lézerek:*

A lézerek biológiai hatásának *in vitro* tanulmányozása a klinikus alkalmazókkal szoros együttműködésben folyt. A nyolcvanas évek elején a HM Budai Honvédkórház nőgyógyász orvosaival együttműködésben vizsgáltuk a lézereknek a portio uteri felületét borító henger és laphám sejtek fehérjeszintézisére gyakorolt hatásának mechanizmusát. 1985–1988 között az ORFI orvosaival a ND:foszfatüveg lézer besugárzás hatását tanulmányoztuk humán térdízületi sinovialis membránon, illetve humán embrionális fibroblaszt sejt kultúrában. Megállapítottuk a leadott energia és a fehérjeszintézis közötti a dózis-hatás összefüggést.

### *Extrém alacsony frekvenciájú (50 Hz) mágneses tér:*

Az extrém alacsony frekvenciájú, és ezen belül az 50 Hz-es mágneses tér biológiai hatásainak kísérletes vizsgálata a 90-es évek elején kezdődött el Osztyalunkon. Ekkor vált lehetővé, hogy elkészíttessük azokat a berendezéseket, amelyekkel jól definiált, homogén mágneses teret tudunk előállítani biológiai kísérleteinkhez. Az 50 Hz-es mágneses terek hatásainak tanulmányozásához is felhasználtuk a mikrohullámú sugárzásoknál már kidolgozott módszereket. Ezeken felül vizsgáljuk az 50 Hz-es mágneses tér hatását a patkányok tobozmirigyének melatonin szintézisére: mérjük a melatonin elsődleges metabolitjának a 6-sulfatoxymelatoninnak a koncentrációját a patkányok vizeletében 50 Hz-es mágneses tér expozíció előtt, alatt és után.

### *Hazai szabályozók kidolgozása:*

Kísérletes munkánk tapasztalatait felhasználva résztvettünk több, a nem-ionizáló sugárzások szabályozásával kapcsolatos magyar szabvány kidolgozásában (pl.: A nagyfrekvenciás elektromágneses tér megengedett határértékei, Lézergyártmányok sugárbiztonsági előírásai stb.). Módszertani leveleket készítettünk az Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat részére a nem-ionizáló sugárzásokat alkalmazó munkahelyek és berendezések engedélyezési és ellenőrzési tevékenységének egységesítése érdekében.

Az alábbiakban összefoglaljuk az Osztyalon jelenleg folyó kutatási témákat és az alkalmazott módszereket.

### *Kutatási projektek:*

- pulzusmodulált mikrohullámú és rádiófrekvenciás sugárzás hatásának vizsgálata,
- mikrohullámú dozimetria szövetekvivalens fantomokkal,
- 50 Hz-es mágneses tér hatásának vizsgálata,
- természetes ultraibolya sugárzás növekedésének hatása a humán katarakta előfordulására (epidemiológiai felmérés)

A biológiai kísérletek zöme *in vivo* állatkísérlet. A használt állatok: egér és patkány.

### *A vizsgálati módszerek:*

- elektrofiziológiai mérések (EEG, REO, VEP) altatott, ill. szabadonmozgó állaton.
- biokémiai vizsgálati módszerek:
  - aminoacil-tRNS szintetáz aktivitásának mérése,
  - extracelluláris kálium-ion mérése agyszövetben,
  - 6-sulfatoxymelatonin mérése vizeletben,
- teratológiai vizsgálatok.

Eredményeinkről több mint 50 nemzetközi és hazai közlemény és mintegy 150 előadás absztraktja jelent meg.

Az Osztály kutatói állománya 1996. év elején: Szabó D. László o.v. főorvos, Bakos József, Jánosy Gábor, Kubinyi Györgyi, Nagy Noémi, Némethné Hoang Thi Son, Szabó Judit, Thuróczy György.

BAKOS JÓZSEF

## ÚJ IRÁNYZATOK AZ ELTE ATOMFIZIKAI TANSZÉKÉN FOLYÓ BIOLÓGIAI-FIZIKAI KUTATÁSOKBAN

A biofizikával kapcsolatos tevékenység az Atomfizikai Tanszéken a hetvenes évek végére és a nyolcvanas évek elejére nyúlik vissza.

Sajnos a nyolcvanas évek kezdetén bekövetkező pénzügyi megszorítások nagyban megnehezítették az új profilok kialakítását. Szinte csak olyan eszközök álltak rendelkezésre, melyeket nagy akadémiai és más kutató intézetek könyvjóváírással átadtak (leslejtezték). A helyzet a kilenvenes évekre javult a pályázati rendszer bevezetésével. Az utóbbi években több pályázat megnyerésével világszínvonalú műszereket és komoly számítógépeket tudtunk beszerezni.

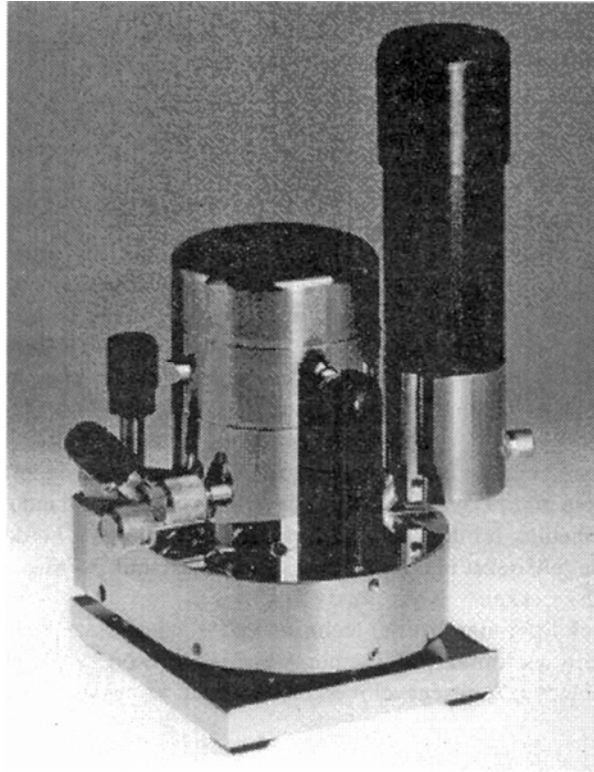
Az Atomfizikai Tanszék egy évre elnyerte az European Chair címet, melynek keretében beszerzett Atomic Force Microscope (Atomerő Mikroszkóp, AFM) rendelkezésre áll biológiai kísérletek céljaira. Az elnyert FEFA pályázatok segítségével a biofizikai laboratórium fejlesztése mellett több nagyobb műszert is vásároltunk, közöttük talán legjelentősebb a molekuláris rétegek készítésére alkalmas Langmuir-Blodgett (LB) teknő, hiszen Magyarországon ez az egyetlen ilyen berendezés. A padovai egyetemmel való együttműködés útján egy Black Lipid Membrane (BLM) berendezés is került a Tanszékre. Szintén pályázatainkból sikerült a Tanszék számítógépes parkját úgy bővíteni, hogy bizonyos biológiai rendszerek modellezésére is alkalmassá vált.

Így az elmúlt 2–3 évben több új irány lépett be a tanszéki biológiai témájú kutatások közé. Az alábbiakban bemutatunk néhányat ezek közül (elsősorban az új kísérleti technikákat figyelembe véve, a teljesség igénye nélkül).

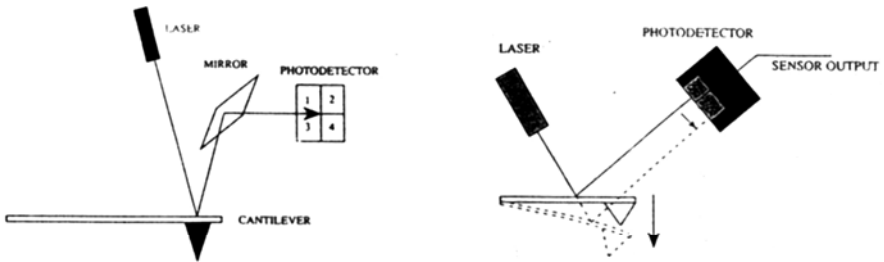
### 1. Az új kísérleti technikák bemutatása

Az **atomerő mikroszkóp** megépítése a 80-as évek végén új utakat nyitott a biológiai mikroszkópiában, hiszen ezzel a módszerrel *in vivo* körülmények között (pl. folyadék alatt is) atomi-molekuláris felbontást érhetünk el, 3 dimenziós képen.

Az AFM elve nagyon egyszerű: egy kis rugólapkára (*cantilever*) rögzített hegyes tű (*tip*) segítségével letapogatjuk a minta felületét (1. ábra). A rugólapkára vetített lézer fénysugár a lapkáról visszaverődve egy négyszögmenes detektorba kerül, amelyben (a detektor szegmensek jeleink megfelelő kombinálásával) a rugólapka meghajlásával ará-



1. a. ábra: A TopoMetrix Explorer Atomerő Mikroszkóp



1. b. ábra: Az atomerő mikroszkóp működési elve

nyos áram keletkezik. A tű és a felület távolságának szabályozásával egy visszacsatolt áramkör a tű és a felület között ható erőt állandó értéken tartja. Ez az erő általában 0.1–1 nN között van. A detektoráram segítségével így a felületről egy topografiás képet alkotunk. A tűt x, y, z irányban piezokristályok mozgatják 0.1 nm-nél nagyobb pontossággal. Ez azt jelenti, hogy egy kristályos felületet akár atomi felbontással letapogathatunk.

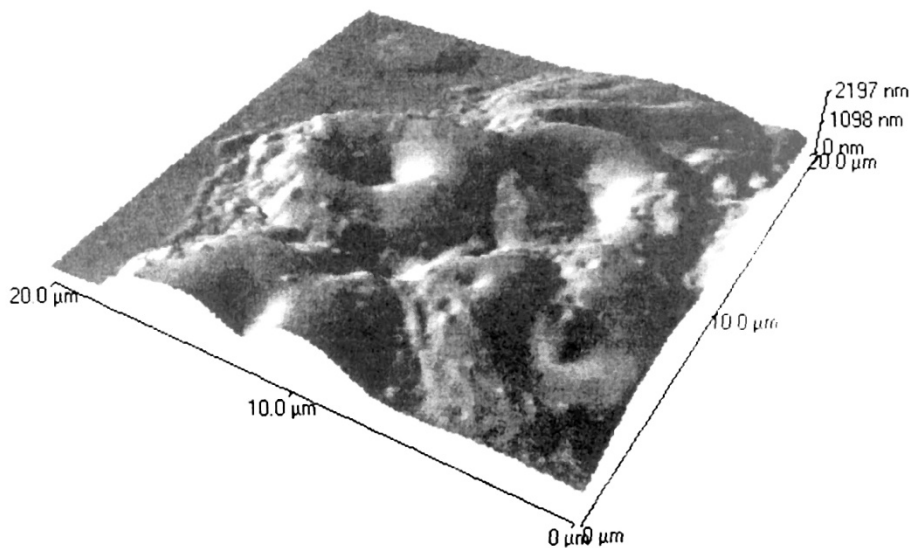
Az egyszerű alapelvet továbbfejlesztve az előzőekben említett ún. *contact mode* mellett az AFM-nek újabb mérési módusai jelentek meg. Ezek közül az egyik az ún.

*noncontact mode*. Ennél – mint ahogy a neve is mutatja – a tű nincs közvetlen kontaktusban a mintával. A méréshez a rugólapkát a rezonancia-frekvencián megrézzetik. Ilyen esetben a felület topográfiáját a rezonancia amplitúdójának és/vagy fázisának megváltozásából lehet rekonstruálni. Ennek a módszernek előnye, hogy a tű még a puha biológiai mintát sem károsítja, viszont így nem érhető el olyan nagy felbontás, mint a kontaktus módusban. Abban az esetben azonban, ha a rugólapkát olyan nagy amplitudóval rezgetjük, hogy az a legnagyobb kitérésnél érintse a mintát, akkor a felbontás nagymértékben növelhető. Ez a módszer hasonlít a harkály kopácsolásához, és *tapping mode*-nak nevezzük.

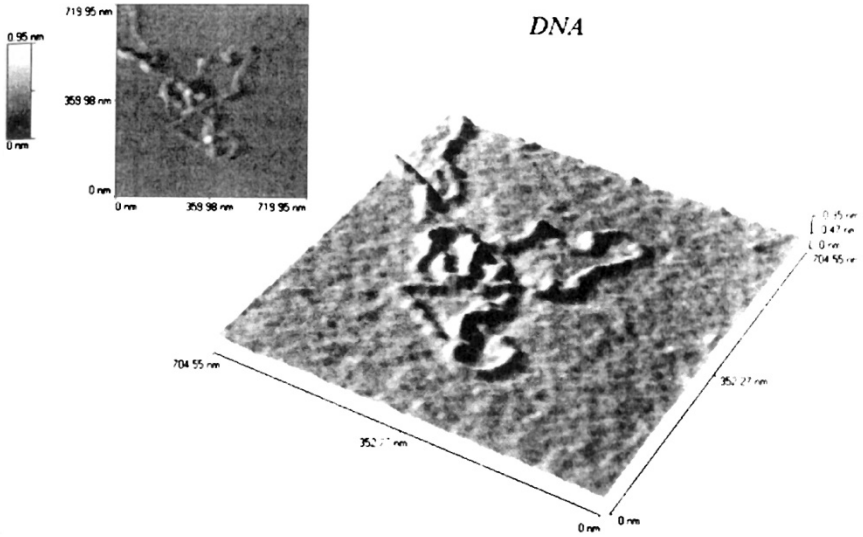
Az Atomfizikai Tanszék AFM berendezése **TopoMetrix<sup>TM</sup>** gyártmányú, és mindhárom módusban használható. Néhány felvételünk 2. ábrán látható.

A **Langmuir-Blodgett (LB) filmek** – több évtizedes szünet után – újra előtérbe kerültek. Ennek elsősorban az az oka, hogy a nanotechnikák megjelenésével számos új alkalmazásra nyílt lehetőség, így pl. a molekuláris elektronikában, a nemlináris optikában, a bioszenzoroknál, illetve biológiai membránok modellezésénél. Az LB-filmkészítő berendezéssel a vizes oldaton (*subphase*) úszó olajszerű monomolekuláris rétegből (amely lehet zsírsav, lipid stb.) egy szilárd hordozónak (*substrate*) számítógéppel történő vezérelt bemerítésével, illetve kihúzásával kontrolált körülmények között (állandó felületi feszültség stb. mellett) vihetünk fel egy vagy több molekuláris réteget a hordozóra. (3. ábra). Ezekbe a rétegekbe fehérjéket is beépíthetünk, és vizsgálhatjuk AFM-mel vagy más optikai és egyéb módszerekkel.

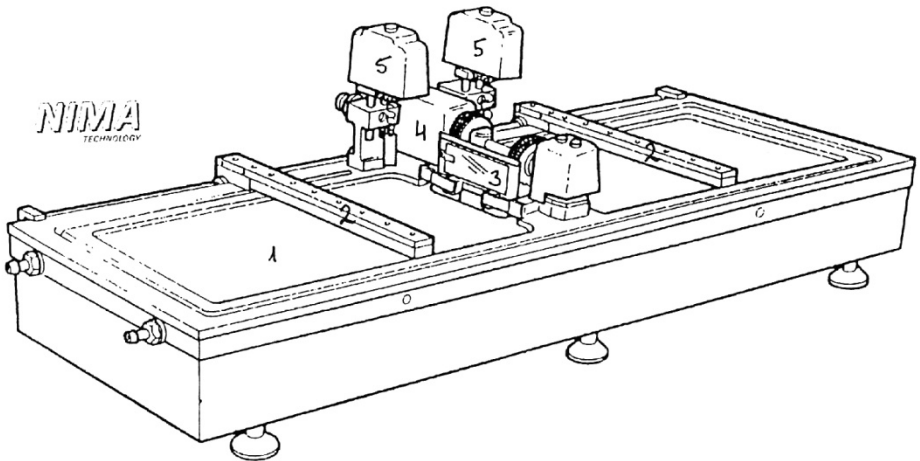
A **BLM (black lipid membrane) technika** változtatható összetételű kétrétegű lipid membránba ágyazott csatornaképző membránfehérjék működésének elektrofiziológiai vizsgálatát teszi lehetővé. Segítségével mérhetővé válnak az egyes csatornákon áthaladó



2. a. ábra: Vörösvérsejtek oldatban

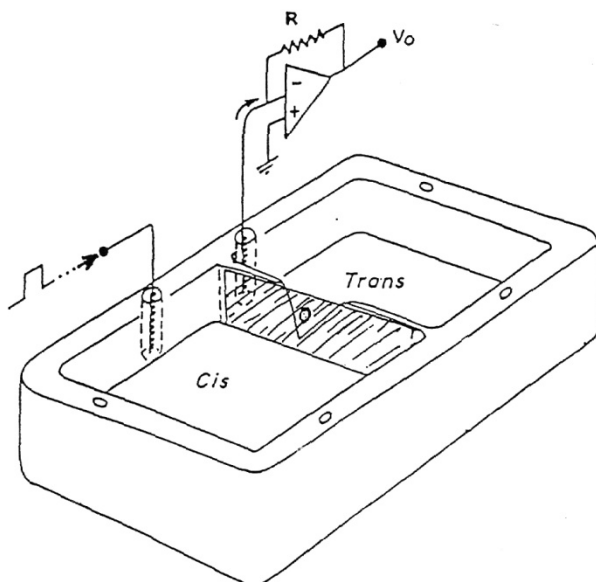


2. b. ábra: Cirkuláris DNS



3. ábra: Langmuir-Blodgett filmkészítő berendezés

- (1. Szubfázis (vizes oldat), amelyre az olajszerű anyagot felviszik
2. Barrier, amellyel az állandó felületi feszültséget biztosítják
3. Szubsztrát, amelyre a film felkerül
4. Vezérelhető motor, amely a szubsztrátot az oldatba meríti
5. Wilhelmy-mérleg, amely a felületi feszültséget méri)



4. ábra: A BLM berendezés

(A tefloncella. A kamrák közötti összeköttetést a válaszfal v-alakú bevágása biztosítja. A válaszfalra szilikonzír segítségével vékony teflonhártyát ragasztanak, amelynek kis átmérőjű nyílására festik fel a membránt alkotó lipideket. A két kamra egy-egy nem polarizálódó elektróddal áll kapcsolatban. A kamra falán található nyílások a perfúziós rendszer csatlakoztatására szolgálnak.)

pA nagyságrendű áramok. A készülékben a membrán két oldala közötti feszültséget szabályozni lehet és lehetőség van a membrán két oldalán lévő folyadékok cseréjére, különböző anyagok (gátló-, illetve indukálószer) hozzáadására (4. ábra).

Ezekkel az új lehetőségekkel a következő kutatások vannak folyamatban:

### 1.1. Önszerveződés keverék lipidekben

Rozlosnik Noémi keverék lipidekben **önszerveződés jelenségét** vizsgálja. Mesterségesen állít elő olyan lipid struktúrákat LB-filmekben, amelyek biológiai rendszerekben előfordulnak, és azokat AFM-mel feltérképezi. Szeretne a továbbiakban olyan módosított AFM tűket előállítani, amellyel az ún. kémiai erő mikroszkópiát lehet megvalósítani, azaz a különböző molekulákat a topográfiától függetlenül detektálni. Ezzel feltehetőleg membránfehérjék azonosítását is megvalósíthatná.

### 1.2. Fehérjék vizsgálata:

Az előző ponthoz szorosan kapcsolódva Rozlosnik Noémi Schméhl Ibolyával közösen fehérje-lipid kölcsönhatást kíván vizsgálni lipid kettős rétegekben. A tervezett egyik előállítási mód a konvencionális LB-filmhúzás technikájával történne.

A vizsgálendő fehérjék egyik csoportja a mitokondriumból származik. Ezeket mind- eddig nem vizsgálták AFM felhasználásával, pedig a mitokondriális makrosztruktúra fel- építése és háromdimenziós szerkezete mindmáig nem tisztázott, jóllehet ez kiemelkedő jelentőséggel bírna a működésük, sőt kölcsönhatásuk (együtműködésük) megértése szem- pontjából.

A másik vizsgálendő fehérjecsoportok (pl. metalotionein) nagy szerepe van a kör- nyezetszennyezés során az élő szervezetbe bejutott nehézfém ionok (pl. ólom) kiürítésé- ben. Ez a fehérje biokémiai szempontból többé-kevésbé ismert, de a fémion megkötésének pontos mechanizmusa ma sem tisztázott. Ez a téma a SOTE Biofizikai Intézetével közös Doktori Iskola programjában szerepel, és jelenleg két doktorandusz (*Szitányi Zsuzsa* és *Nemes Csilla*) dolgozik rajta Rozlosnik Noémi vezetésével.

### 1.3. Fényérzékeny biológiai rendszerek vizsgálata

*Papp Elemér* bakteriorodopszinnal kapcsolatos kutatásait folytatja az SZBK-val együtműködésben: LB-filmbe épít be fényérzékeny fehérjéket – bakteriorodopszint, LHCI-t (Light Harvesting Complex II) –, majd szerkezetüket (AFM) és működésüket vizsgálja.

*Fricovszky György* az LB-filmhúzó készülékre alapozottan optikai vizsgálatokat tervez végezni a készítés ideje alatt, valamint az elkészült rétegeken. E mérések mind a bíbormembránból készített, mind kloroplasztisz tartalmú monorétegeken, vagy többszörös rétegeken a szerkezet és a működés közötti összefüggésekre adnának információt.

### 1.4. Csatornaképző fehérjék elektrofiziológiás vizsgálata

*Schméhl Ibolya*, a BLM technikát alkalmazza a sejtmembránok vizsgálatára. A membránt átérő fehérjekomplexek specifikus ingerre megnyílnak és ionokat, illetve makro- molekulákat is átértesztő csatornákat, illetve pumpákat képezhetnek. Az LB és BLM tech- nikával kétrétegű planáris lipid membránok segítségével a biológiai membránokból izolált egyes fehérje alkotórészek szerkezetét, illetve működését csaknem fiziológiás körülmé- nyek között lehet tanulmányozni.

## 2. Biológiai rendszerek statisztikus fizikai leírása

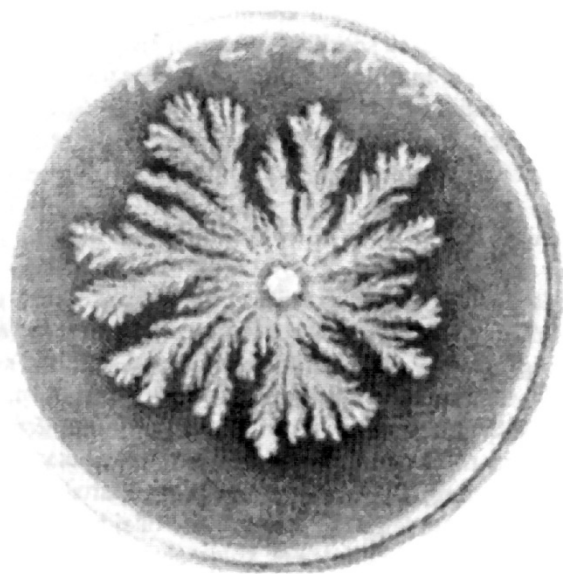
Míg a 70-es években a statisztikus fizikai kutatások elsősorban az egyensúlyi rend- szerekre irányultak, addig a 80-as évektől kezdve a vizsgálatok egyre növekvő mértékben összpontosultak az egyensúlytól távoli körülmények között kialakuló komplex viselkedés- re. Ezen kétféle jelenségcsoport között fontos analógiák állnak fenn, amelyek nagymér- tékben segíthetik a különféle nemegyensúlyi folyamatok megértését. A közös vonások alapja az a mély, a renormalizációs csoport módszer megalkotása óta elméleti úton is megalapozott felismerés, hogy a sok egyforma részecskét tartalmazó rendszerek ún. ko- operatív viselkedése többnyire független a részecskék tulajdonságainak számos részleté- től. Ez teszi lehetővé, hogy az alkotóelemek kölcsönhatásainak (általában mikroszkopi- kus) hatótávolságánál sok nagyságrenddel nagyobb skálán is megjósolhassuk a rendszer viselkedését különféle egyszerű modellek segítségével. Az elmúlt évtizedekben ugyanis

– részben a nagyteljesítményű számítógépek elterjedésének köszönhetően – fontos eredmények születtek különféle nemegyensúlyi élettelen rendszerek vizsgálatában. Ennek fényében természetesen adódik a gondolat, hogy ezeket a tapasztalatokat jól kontrollálható biológiai kísérletek analízisére is alkalmazzuk, és eredményül az életjelenségek egy olyan modelljét nyerjük, amely a makroszkopikus viselkedést a mikroszkopikus részletekkel összhangban írja le.

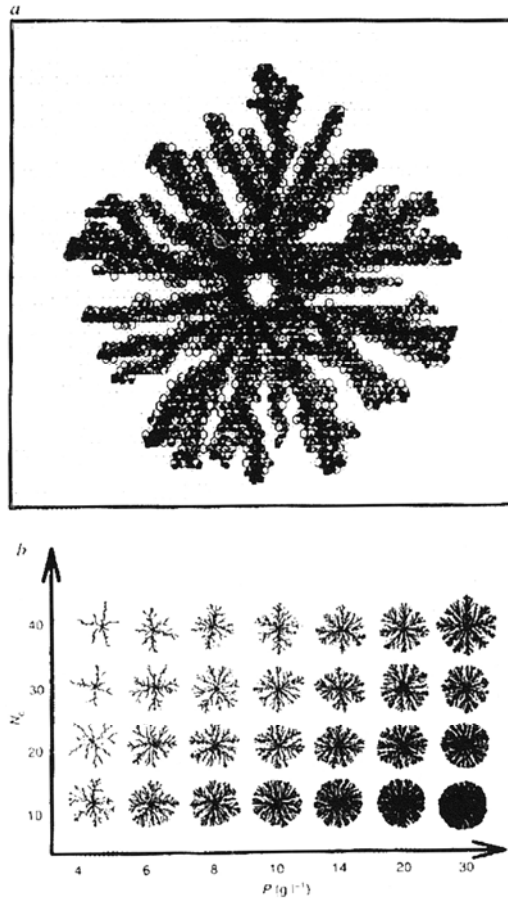
Vicsek Tamás diákjaival együttműködve az elmúlt 2 évben három biológiai vonatkozású témakörben ért el eredményeket. Mindháromhoz kapcsolódnak kísérletek, elméleti számítások, illetve számítógépes szimulációs vizsgálatok.

## 2.1. Kooperatív viselkedés baktériumtelepekben.

A Petri csészék aljára lehelyezett táptalaj rétegen növekedő baktériumtelepek érdekes példáját jelentik a bonyolult részecskék kölcsönhatása során kialakuló kooperatív viselkedésnek. A kísérletek során megfigyelt baktériumtelep alakzatok egy része megegyezik az élettelen rendszerekben is megfigyelhető fraktál formákkal, míg a kísérlet feltételeinek módosításával olyan telepstruktúrák is kialakulnak (például kiralitással rendelkező „göndör” nyúlványokkal jellemezhető telepek), amelyek már az adott baktérium tulajdonságaitól függenek. További érdekes jelenségek a gyűrűszerkezet, valamint a forgó korongokat tartalmazó telepek létrejötte. Ezeket a megfigyeléseket olyan modellekkel sikerült leírni, amelyekben a baktériumok mint összetett részecskék szerepelnek, és ezért a részecskék kölcsönhatására vonatkozó szabályok a szokásosnál komplexebbek (5. ábra).



5. a. ábra: Valódi baktériumtelep



5. b. ábra: Különböző kezdeti paraméterekkel szimulált baktérium telepek

## 2.2. Önhajtó részecskék

Az élőlények egyik legfontosabb tulajdonsága, hogy mozognak, és bizonyos közegben önhajtó részecskéknek lehet őket tekinteni. Így egyes, sok egyedet tartalmazó biológiai rendszerek leírhatók önhajtó ( $v$  állandó abszolút sebességgel bíró) részecskéket feltételező modellek segítségével. Az állandó abszolút sebességet valamilyen energia betáplálási mechanizmus biztosítja, pl. a Petri csészében mozgó baktériumok esetében a tápanyag felhasználása. Az ilyen önhajtó részecskékre vonatkozó „ütközési szabályok” emiatt, valamint a részecskének a szubsztrátumhoz való csatoltsága következtében nem teljesítik az energiamegmaradás és az impulzusmomentum megmaradásának a fizikában szokásos feltételét. Így érdekes új jelenségek (példuául nemegyensúlyi fázisátalakulások) figyelhetők meg ennek az általuk javasolt új modellnek számítógépes vizsgálata során.

## 2.3. Molekuláris motorok

Egy 1993-ban publikált, azóta nagy érdeklődést keltett cikk hívta fel a figyelmet arra, hogy makroszkópikus külső tér vagy koncentrációgradiens hiányában is kialakulhat transzport, amennyiben a részecskék nemegyensúlyi fluktuációk hatására mozognak aszimmetrikus periodikus potenciállal leírható struktúrák mentén (például a sejtekben található kinezin molekulák, vagy másnéven molekuláris motorok, tubulin szálak felületén). A korábbi vizsgálatok elsősorban egy részecske mozgásának elméleti és kísérleti tanulmányozására korlátozódtak, eltekintve néhány igen friss kísérleti munkától. A tényleges biológiai körülményekre az jellemző, hogy több részecske egyidejűleg vesz részt a transzportfolyamatban. A Tanszéken végzett számítógépes szimulációs vizsgálatok érdekes kollektív jelenségeket mutattak, ha sok molekuláris motor együtt mozgott egy tubulin szál mentén.

## 3. Biooptika

*Horváth Gábor*, a nagylátószögű video-polarimetria módszerének kidolgozásán dolgozik és ennek különféle biológiai alkalmazásait vizsgálja. Egy video-polariméterrel a terepen felveszi az adott biotópban egy forgó lineáris polárszűrő által modulált intenzitás eloszlását a szűrő irányának függvényében, majd e felvételeket egy képdigitalizáló állomáson számítógéppel kiértékeli, aminek eredményeként megkapja a szóbanforgó biotóp mért polarizációs mintázatát. Ezzel a természetes biotópok polarizációs mintázatának atlaszát kívánja elkészíteni.

Egy további ide kapcsolódó téma a szín- és polarizáció-érzékeny állati retinák neurális aktivitás mintázatának számítógépes modellezése és vizualizációja.

ROZLOSNIK NOÉMI

## LUMINESZCENCIA SPEKTROSKÓPIAI LABORATÓRIUM A SOTE BIOFIZIKAI INTÉZETÉBEN

A Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biofizikai Intézetében az egyetemi PhD képzés elindulásával párhuzamosan 1993-ban a FEFA anyagi segítségével új kutatási irányvonal indult el. Az ELTE TTK támogatásával Lumineszcencia Spektroszkópiai Laboratórium létesült újonnan rendelkezésre bocsátott helyiségekben, amelyben főként fehérje szerkezetvizsgálattal, illetve porfirin-szintézissel és anyagcserével összefüggő kutatások kaptak helyet. A laboratórium vezetője e sorok írója, s jelenleg 6–7 munkatárs, 5 PhD hallgató, továbbá 4–5 TDK-s hallgató aktív részvételével folynak fenti témakörben a kutatások.

FIDY JUDIT