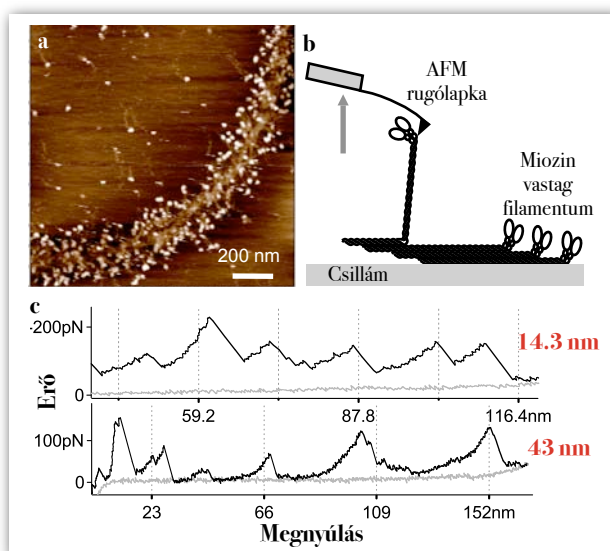


Kellermayer Miklós

Egyedi biomolekulák vizualizálása és nanomechanikai manipulálása

Fizikai, kémiai és biológiai tudásunk nagy része molekulasokaságon végzett kísérletekből származik azzal a feltételezéssel, hogy azonos körülmények között az azonos összetételű molekulák többé-kevésbé ugyanúgy viselkednek. Az utóbbi évek egy-molekula kísérletei azonban rámutattak, hogy ugyanazon kémiai összetételű molekulák különböző utakat járhatnak be egy adott folyamat során. Sztochasztikus jelenségek léphetnek fel, melyek rejtve maradnak a molekulasokaságban. Komplex interakciós kaszkádfolyamatokban, mint például a biológiában oly jelentős jelátviteli utak, gyakran kiskökű a térbeli és időbeli szinkronizáció, ami a elfedi a lépések részleteit. Ezért, jóllehet különböző állapotok lehetnek jelen egyidejűleg, a vizsgáló csupán ezek átlagát érzékeli. Ezzel szemben az egy-molekula módszerek lehetőséget adnak az adott molekuláris folyamatban fellelhető különböző térbeli és időbeli állapotok azonosítására és jellemzésére. Ezek az állapotok lehetnek molekulaszervezeti, elektron-energia és interakciós állapotok (kötött, disszociált). Bizonyos területeken az egyedi molekula eljárásoknak nincsenek komoly alternatívái: biomolekulák mechanikai tulajdonságait csak molekulák egyenkénti manipulálásával mérhetjük meg pontosan. Ennek megfelelően négy terület azonosítható, melyek esetében az egy-molekula módszerek különleges, egyedi információval szolgálnak, amelyek a molekulasokaságon végzett kísérletek számára nem elérhetők: 1) időbeli állapotok azonosítása sztochasztikus (pl. fluorofór pislogás) vagy egyéni mintázatú folyamatok (pl. memória effektus enzimekben) esetében, 2) térbeli állapotok azonosítása párhuzamos útvonalakon futó folyamatok esetében (pl. fehérjeteretkedés), 3) biomolekuláris mechanika (pl. rugalmasság, motorfehérjék) és 4) egyedek követése heterogén molekulasokaságban (pl. vírus partikulum közlekedése a citoplazmában).

Kutatómunkánkban számos, különböző biomolekuláris rendszert vizsgálunk egyedi molekula vizualizációs és manipulációs technikákkal: titin óriás izomfehérje, aktin, miozin, amiloid fibrillumok, fibrin filamentumok, kollagén rostok, DNS, RNS és kromatin. Az alkalmazott módszerek az atomerómikroszkópia, lézercsipesz, egymolekula fluoreszcencia. A bemutatott ábrán szintetikus miozin vastag filamentumokon nyert eredményeink láthatók. A vastag filamentum, amely az izom összehúzódásáért felelős szupramolekuláris struktúra, bipoláris szerkezetben egymáshoz asszociálódott miozin molekulákból áll. A filamentum mentén a miozin molekulák periodikusan helyezkednek el. Régi feltételezés, hogy a periodikus elrendeződésért a miozin molekula farki doménjében szabályos ismétlődésű, alternáló pozitív és negatív töltésű szakaszok a felelősek. A feltételezésre azonban közvetlen kísérletes bizonyíték nem született. Kísérletünkben a vastag filamentumok felületéről miozin molekulákat fejtettünk le nanomechanikai manipulációval. A molekulák lefejtése közben periodikus akadályokat észleltünk, amelyek az erőgörbében ismétlődő csúcsokként jelentkeztek. A periódus megegyezik a miozin molekula aminosav szekvenciája alapján jósolt értékkel, tehát a régi feltételezést közvetlen kísérletekkel támasztottuk alá.



Szintetikus miozin vastag filamentum nanomechanikai manipulálása atomerő-mikroszkóppal. a. Vastag filamentum pásztázó AFM képe. A felvételen a miozin molekulák farki és feji doménjei is jól kirajzolódnak. A felvétel puffér oldatban történt. b. Miozin vastag filamentum manipulálásának sémája. c. Erő-megnyúlás görbék, amelyekben adott periódusú erőcsúcsok jelentkeznek. A periódust pirossal jelöltük.

1. Kellermayer, M.S.Z., Smith, S.B., Granzier, H.L. and Bustamante, C. Folding-unfolding transitions in single titin molecules characterized with force-measuring laser tweezers. *Science* **276**, 1112-1116, 1997.
2. Grama, L., Somogyi, B. Kellermayer, M.S.Z., Global configuration of single titin molecules observed through chain-associated rhodamine dimers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 14362-14367, 2001.
3. Nagy, A., Cacciafesta, P., Grama, L., Kengyel, A., Málnási-Csizmadia, A., and Kellermayer, M.S.Z. Differential actin binding along the PEVK domain of skeletal-muscle titin. *J. Cell Sci.* **117**, 5781-5789, 2004.
4. Kellermayer, M.S.Z., Grama, L., Karsai, Á., Nagy, A., Kahn, A., Datki, Z. and Penke, B. Reversible unzipping of amyloid β -fibrils. *J. Biol. Chem.* **280**(9), 8464-8470, 2005.
5. Miklós S.Z. Kellermayer, Árpád Karsai, Margit Benke, Katalin Soós, and Botond Penke. Stepwise dynamics of epitaxially growing single amyloid fibrils. *Proc Natl. Acad. Sci. USA* **105**(1):141-4, 2008.
6. Brennan Decker and Miklós S.Z. Kellermayer. Periodically arranged interactions within the myosin filament backbone revealed by mechanical unzipping. *J. Mol. Biol.* **322**, 307-310, 2008.