

Egyedi biomolekulák vizualizálása és mechanikai manipulálása atomerőmikroszkóppal

Kellermayer Miklós S.Z., Nagy Attila, Karsai Árpád, Kengyel András, Huber Tamás, Kiss Balázs, Amram Kahn, Tóth Péter, Grama László

Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Biofizikai Intézet, 7624 Pécs, Szigeti ut 12.
miklos.kellermayer.jr@aok.pte.hu

Az atomerőmikroszkóp (AFM) nagy felbontású, nem diffrakciólimitált képalkotó módszer, melyben egy rugólapkán levő tűvel tapogatjuk le a minta felületét. Az AFM-mel biomolekulákat egyenként vizualizálhatunk, ugyanakkor mechanikailag is manipulálhatunk (**1. ábra**). Egyedi molekulákon végzett mechanikai mérésekből a rugalmasságra és a mechanikailag vezérelt szerkezeti változásokra következtethetünk. Kísérleteinkben számos rendszert, úgymint citoskeletonális (aktin, titin, dezmin) és extracelluláris fehérjéket (kollagén) és amiloid fibrillumokat vizsgálunk, melyek közül néhányat mutatunk be.

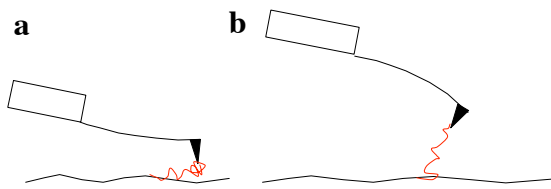
A *titin* láncszerű intraszarkomerikus óriásfehérje (**2.a ábra**), mely ~300 globuláris, β -hordó szerkezetű doménből és a közöttük szórványosan elhelyezkedő egyedi szekvenciákból áll. A *titin* megnyújtásával jellemeztük rugalmasságát, illetve a benne lejátszódó mechanikailag vezérelt szerkezeti átmeneteket (**2.b ábra**). A molekula "féregszerű" ("wormlike chain", WLC) entropikus polimerként viselkedik, melyben nyújtáskor doménkitekeredés, és visszaengedéskor domén-visszatekeredés játszódik le. A doménkitekeredési események fűrészfog alakú átmenetek formájában jelentkeznek az erő-megnyúlás függvényben. Erőhiszterézis is megfigyelhető, jelezve, hogy a molekula nyújtása, illetve visszaengedése gyorsabban történik, mint az egyensúlyi domén ki-, illetve visszatekeredés.

A *dezmin* az izomsejtek intermedier filamentális fehérjére, mely α -helikális alapszerkezetű doméneket tartalmazó alegységekből épül fel. A pásztázó AFM felvételeken jól kivehető a *dezmin* filamentális szerkezete (**3.a ábra**). A *dezmin* mechanikai erőválaszában nemlineáris rugalmasságra épülő fűrészfog alakú átmenetek jelentkeznek (**3.b ábra**). A rugalmasság jól leírható a WLC modellel. Az erőátmenetek a *dezmin* protofilamentumokban megnyújtás hatására fellépő doménkitekeredési eseményekkel hozhatók összefüggésbe. Az eredmények arra is utalnak, hogy a protofilamentumokat hosszanti irányban összetartó erők jóval nagyobbak, mint azok, amelyek a protofilamentumokat oldalirányban tartják össze.

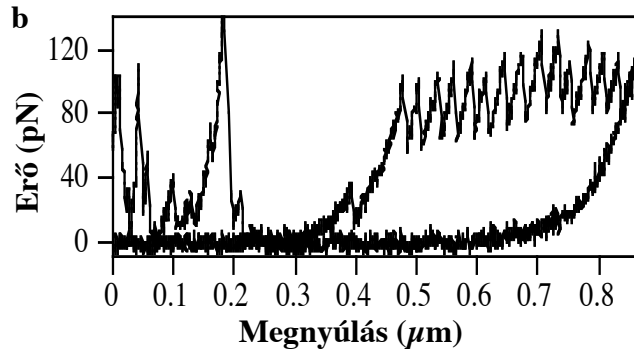
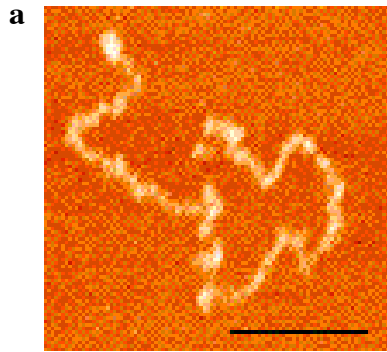
Az *amiloid β -fibrillumok* (A β -fibrillumok) a 40-42 aminosavból álló amiloid β -peptid molekulák kooperatív egymáshoz kapcsolódásával, aggregációjával alakulnak ki. Az A β -fibrillumok szerkezete nehezen vizsgálható hagyományos módszerekkel (NMR, röntgenkrisztallográfia). Az A β -fibrillumok AFM képen jól látható a fibrilláris szerkezet (**4.a ábra**). Az A β -fibrillumok erőgörbéiben gyakran lépcsőzetesen csökkenő magasságú platók figyelhetők meg (**4.b ábra**). Az erő-plató a protofibrillumok zippzárszerű széthúzásával magyarázható, mely konstans erő mellett megy végbe. A protofibrillum visszaengedésekor reverzibilitást tapasztalunk, vagyis a protofibrillum kooperatív módon visszkapcsolódik a fibrillumba.

Összefoglalva megállapítható, hogy az AFM fontos módszer nemcsak a biomolekulák alaki sajátosságai, hanem belső szerkezete és dinamikája megismerésében.

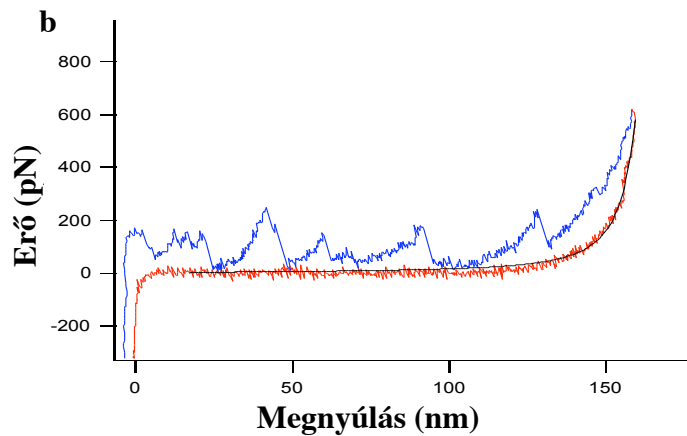
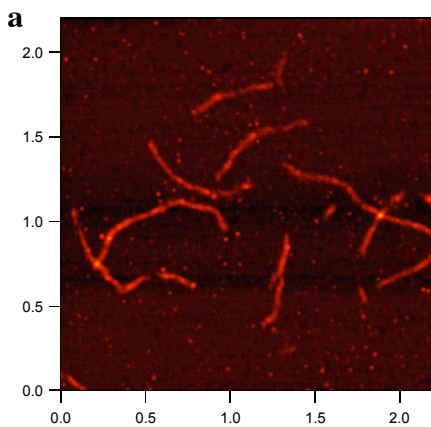
Köszönetnyilvánítás. Az amiloid peptideket Penke Botondtól (SZTE) kaptuk. Kutatómunkánkat az OTKA (T37935), ETT (440/2003), OMFB (BIO-110/2002), az Európai Unió (FP5) és a Howard Hughes Medical Institute támogatja.



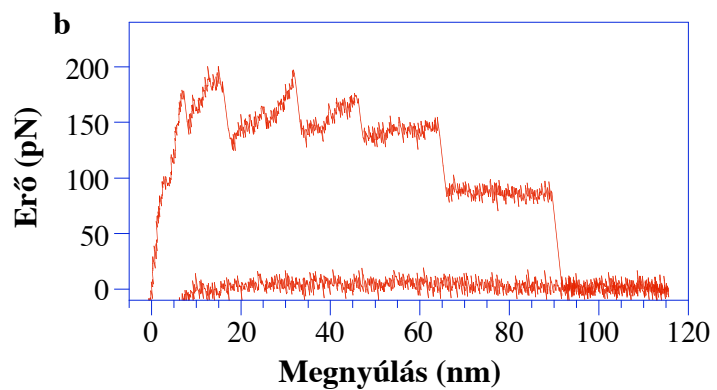
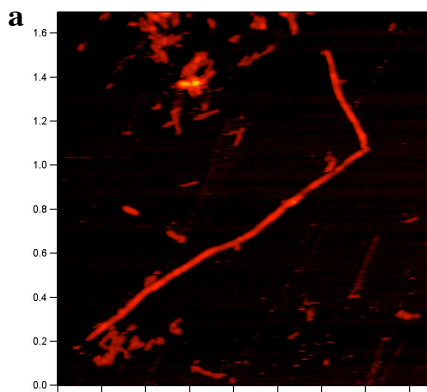
1. ábra. Atomerőmikroszkópos molekula-manipuláció sémája. A rugólapkán levő tűt a minta felszínébe nyomjuk (a), majd attól eltávolítjuk (b), ezáltal megnyújtva a felszín és a tű közé fogott molekulát.



2. ábra. A titin óriás izomfehérje AFM pásztázási képe (a) és molekuláris erőspektruma (b). Méretskála $0.1 \mu\text{m}$. Az erőgörbében jól láthatók a fűrészfog alakú átmenetek.



3. ábra. Desmin intermedier filamentumok AFM pásztázási képe (a) és erőspektruma (b). Az AFM kép tengelybeosztása μm -ben van.



4. ábra. Amiloid β -fibrillumok AFM pásztázási képe (a) és erőspektruma (b). Az AFM kép tengelybeosztása μm -ben van.