

# Zárójelentés

OTKA F043756

A kutatásaimat az eredeti pályázattal összhangban a következő négy biológiai fizikai témakörben végeztem:

## 1. Polimerdinamika

Polimerszálaknak nanopórusokon való áthaladása egy elméletileg és kísérletileg egyaránt intenzíven tanulmányozott folyamat, gyakorlati jelentősége miatt. M. Elbaum csoportja néhány évvel ezelőtt DNS molekuláknak a sejtmagba való bejutását vizsgálta egy elegáns kísérlet segítségével [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**, 7247 (2001)]. A sejtmag ugyanis a pórusain keresztül egy aktív, de máig ismeretlen transzportfolyamat révén képes kívülről DNS molekulákat behúzni. Hogy nyomon követhessék a behúzást, egy néhány mikron átmérőjű polisztirol gyöngyöt erősítettek a DNS-re, amit egy optikai csipesz segítségével időnként elhúztak a sejtmag közeléből, lehetővé téve az így kiegyenesített még kint lévő szakasz hosszának megmérését. A kísérleti eredmények azt mutatják, hogy a behúzás lassan és egyenletes sebességgel történik nagyon sokáig, de végül a kint lévő szakasz hossza bekongvergál egy 1 mikron körüli értékhez. Elbaumék a cikkükben rögtön fel is vázoltak egy magyarázatot erre a nem 0-hoz tartó konvergenciára, amely szerint a sejtmag és a gyöngy között fellépő entropikus taszítás nő a kint lévő szakasz rövidülésével. Elméleti számolással és numerikus szimulációval egyértelműen megmutattuk, hogy épp az ellenkezője történik, azaz az entropikus taszítás csökken a hossz rövidülésével, tehát a konvergencia ezzel nem magyarázható [1]. Alternatívaként két lehetőséget vázoltunk fel. Az első egy gyenge reverzibilis (pl. kémiai potenciálkülönbségen alapuló) behúzást feltételez, amit végül a gyöngy Brown-mozgása tart vissza átlagosan 1 mikronra. A másik egy erős irreverzibilis de lassú behúzást (pl. egy olyan „racsni mechanizmuson” alapuló, amelyben a bent lévő részekre erősen rákötődhetnek visszacsúszást gátló molekulák) feltételez. Ekkor viszont a behúzás lelassulásához más magyarázatot kell keresni: felületi struktúrák jelenléte, membrándeformáció, képfeldolgozási hiba, stb.

Polimerszálak szimulációjához egy új eljárást is kidolgoztunk, amelyben a diszkretizált szál kötéshosszának és szögrugójának megfelelő renormálásával lehetőség nyílik a diszkretizáció durvítására, és így a szimuláció jelentős mértékű felgyorsítására. Ez a munkánk még publikálás alatt áll.

## 2. Molekuláris motorok és Brown racsnik

A hajtott diffúzió random közegekben (pl. üvegekben, rendezetlen kristályokban, porózus anyagokban) egy sokat tanulmányozott folyamat. Amennyiben a hajtóerő időben szimmetrikus [ $F(t) = -F(-t)$ ] és periodikus, a periódusidőnél sokkal nagyobb időskálán azt várnánk, hogy a hajtóerő hatása nullára kiátlagolódik és csak egy irányítatlan diffúzió marad vissza. Egydimenziós random potenciálban mozgó részecskére ez valóban

teljesül is. Megmutattuk azonban, hogy két (vagy több) dimenzióban, véletlen magasságú potenciálgátak által elválasztott és egységnyi rácsállandójú  $L \times L$  méretű rácsba rendezett potenciálvölgyek esetén, makroszkopikus örvényszerű mintázatok jelennek meg a hajtott részecske áramának időátlagában [6]. Ez a véletlen potenciálban lokálisan jelenlévő aszimmetria következménye. Kis amplitúdójú hajtóerő esetén az örvényáramok a rendszer méretével összemérhető távolságokon is korrelációt mutatnak. A mikroszkopikus rendezetlenségnek ez a meglepő makroszkopikus manifesztációja számos technikai berendezésben előfordulhat, valamint alapja lehet biológiai mintázatképződési folyamatoknak.

### 3. Molekuláris adszorpció és adhézió

A fehérjék szilárd felületre történő letapadásának fontos szerepe van számos biológiai, ill. biotechnológiai folyamatban. Ennek ellenére a jelenség még nem teljesen megértett, több megoldatlan paradoxon létezik, és sokféle modell kering az irodalomban. Az egyik legkevésbé ismert jelenségekör a már letapadt és a még oldatban lévő fehérjék egymással való kicserélődése. Ennek a tanulmányozására Vörös János csoportja az ETH Zürich-ben olyan kísérleteket végez amelyekben egy adott típusú fehérjének a fluoreszcensen jelölt és jelöletlen változatát egyaránt használják. Mivel egy újfajta technikával képesek nagy pontossággal folyamatosan mérni a letapadt fehérjék össz mennyiségét és ezen belül csak a jelöltekét is, nyomon tudják követni a fehérjék kicserélődését, például úgy, hogy a kezdetben tisztán jelöletlen fehérjéket tartalmazó oldathoz valamennyi idő után jelölt fehérjéket adnak. Ennek a kísérletnek a modellezésére és értelmezésére dolgoztunk ki egy reverzibilis mezoszkopikus modellt a fehérjeletapadásra [2]. A modell lényege, hogy a fehérjék többféle konformációt vehetnek fel a letapadt állapotban, melyeket különböző tapadási felület és energia jellemez, valamint különböző energiagátak választanak el egymástól. Így a letapadás után a fehérjék képesek szétterülni, de akár összehúzódni is (főleg ha a szomszédok kényszerítik őket) és az oldatba visszajutni. A modell segítségével (numerikus és analitikus eszközökkel) számos jelenséget sikerült reprodukálni és nemtriviális jelenségeket jósolni.

A legújabb molekuláris szintű technikák lehetővé teszik molekuláris kötések (pl. ligandum-receptor pár adhéziójának) vizsgálatát külső húzóerők alkalmazásával [E. Evans, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. **30**, 105 (2001)]. Ezek, a dinamikus erőspektroszkópia (dynamic force spectroscopy) néven hivatkozott kísérletek, a hagyományos molekuláris szerkezeti vizsgálatokat kiegészítve, információt adnak a vizsgált molekulák dinamikai tulajdonságairól, valamint a letekeredési (unfolding), ill. elszakadási (unbinding) útvonal energiaszerkezetéről. A húzás általában egy időben lineárisan növekedő erővel ( $f = Kvt$ ) történik, valamilyen lágy erőátviteli rendszer (pl.  $K$  rugóállandóval jellemezhető polimerszál vagy membránszák) egyenletes ( $v$  sebességű) nyújtásán keresztül. A terhelési ráta ( $Kv$ ) különböző értékei mellett az elszakadási idő (vagy az ezzel ekvivalens elszakadási erő) eloszlását szokták meghatározni a kísérlet sokszori elvégzése után.

Kiszámolható, hogy ha az elszakadási útvonal egyetlen energiagátat tartalmaz, akkor a tipikus elszakadási erő lineárisan függ a terhelési ráta logaritmusától. A korábban elfogadott elmélet szerint  $N$  energiagát esetén egyszerűen az egyes gátakhoz tartozó egyenesek felső burkolóját kapjuk, ami így maximum  $N$  darab, monoton növekedő meredekségű lineáris szegmensből állhat. Részletesebb elméleti számolással megmutattuk, hogy akár  $N(N + 1)/2$  szegmens is megjelenhet [3]. Ez különösen lényeges 3 szegmens kísérleti megfigyelése esetén, hiszen így már mindössze 2 energiagáttal leírható a rendszer. Az elméletünk további következménye, hogy a terhelési ráta bizonyos értékeire az elszakadási erő bimodális vagy multimodális eloszlást mutathat, amit nemrég kísérletileg is észleltek.

#### 4. Biológiai membránok

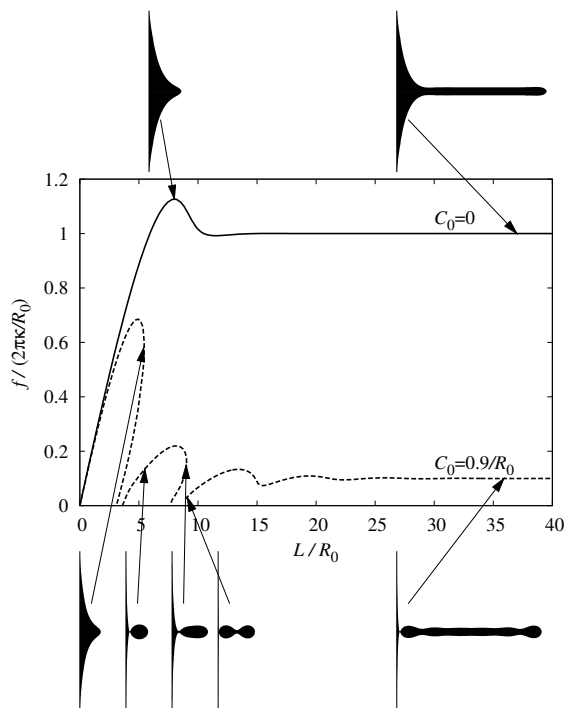
Biológiai membránok, mint pl. az endoplazmatikus retikulum, a Golgi apparátus, a sejthártya vagy a mitokondrium belső membránja, gyakran alkotnak dinamikusan változó, bonyolult topológiájú (tubuláris, lamelláris) struktúrákat (esetleg hálózatokat). Az utóbbi években ezek közül elsősorban a nanocsövek elméleti leírásával foglalkoztam. Elnevezésük abból adódik, hogy ezek olyan csövecskék, amelyek vastagsága mindössze néhányszor tíz nanométer körüli. A hosszuk ezzel szemben akár a több mikront is elérheti. Többnyire úgy keletkeznek, hogy molekuláris motorfehérjék elkezdik húzni, vagy polimerizálódó filamentumok elkezdik nyomni a membránt egy ponton. A kísérleti bizonyítékok rohamosan növekvő száma bizonyítja fontosságukat a sejten belüli, de még a sejtek közötti transzportfolyamatokban is.

M. Dogterom kísérleti csoportjával azt vizsgáltuk, hogy hogyan befolyásolja a membráncsövek keletkezését az, ha a membránt egy nagyobb területen fogjuk meg (egy optikai csipesszel mozgatott gyöngy segítségével) [5]. Azt tapasztaltuk, majd elméleti számításokkal is alátámasztottuk, hogy az erő nem-monoton módon változik, a maximuma pedig egyenesen arányos a megfogott felület sugarával. A csőformálódás ráadásul egy elsőrendű folyamat: Nemsokkal az erőmaximum elérése után a membrán alakja hirtelen megváltozik és az erő leesik. A csövet lassan visszafelé eresztve pedig hiszterézis tapasztalható, mert a cső alakja nem ugyanott ugrik vissza.

Ha egy vezikulumból két csövet is kihúzunk, akkor azok a tövüknél fogva szeretnének összeolvadni, hiszen így lecsökken az összhosszuk, és ezáltal az energiájuk. Ha azonban a csöveket különböző irányokba húzzuk, akkor az összeolvadást megnehezíti, hogy a csöveknek időlegesen meg kell hosszabbodniuk ahhoz, hogy a töveik találkozhassanak. Ennek a jelenségnek a kísérleti tanulmányozását végezte P. Nassoy csoportja, amihez én az elméleti háttérrel biztosítottam. Megmutattuk, hogy ha a két cső által bezárt szöget elkezdjük csökkenteni, akkor egy kritikus szögértéknél a csövek hirtelen összeolvadnak [4]. Érdekes módon a kritikus szögből és a vezikulum sugarából kiszámolható a csövek  $R_0$  sugara, amit más kísérleti eljárással csak nagyon nehezen és pontatlanul lehet megkapni. A kísérlethez használt optikai csipesz segítségével a csövek  $f_0$  húzóereje is könnyen megmérhető. Így egy olyan új és egyszerű módszert kaptunk, amelyben  $R_0$  és  $f_0$

együttes mérésén keresztül a membrán két legfontosabb rugalmas paramétere, a  $\sigma$  felületi feszültség és a  $\kappa$  hajlítási merevség, azonnal meghatározható. Korábbi módszerekkel csak külön-külön, és a rendszer komoly megzavarásával lehetett ezeket megmérni. Az új módszerünk lehetőséget teremt biológiai folyamatokban ezen mennyiségek változásának folyamatos nyomonkövetésére is.

Megmutattuk továbbá, hogy ha görbültre érzékeny fehérjék találhatók a membránban, akkor létezik egy kritikus fehérjekoncentráció (pontosabban a fehérjék által indukált  $C_0$  spontán görbületnek egy  $C_0^{\text{crit}} = 1/R_0$  kritikus értéke), amely felett gyöngyösödési (pearling) instabilitás lép fel, és így stabil nanocső sem alakulhat ki [7]. Ennek következtében pedig a membrán húzása során egyszerűen újabb és újabb hólyagocskák válnak le. Már a kritikus érték elérését megelőzően jelentős oszcillációk és elsőrendű alakváltozások lépnek fel, ahogy ezt a következő ábra alsó görbéje és a néhány pontban kirajzolt nanocső alakja illusztrálja (a felső görbe a spontán görbület nélküli esetet mutatja). Ez a jelenség fontos szerepet játszhat gömb vagy hosszú csőszerű vezikulumok kialakulásában.



### Egyéb tudományos tevékenység

A fentiekén kívül a pályázat három éve alatt még további 6 tudományos cikkem született a komplex hálózatok témaköréből (amely nem része a jelen OTKA pályázatnak), sikeresen habilitáltam az ELTE Fizika Szakterületén, ill. pályázatot nyújtottam be az MTA doktora címre.