

# AZ IMMUNGLOBULIN — KÜLÖNBÖZŐ TEVÉKENYSÉGEK ÖSSZEANGOLÁSA EGY MAKROMOLEKULÁBAN

ZÁVODSZKY PÉTER

Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Központ Enzimológiai Intézete,  
Budapest

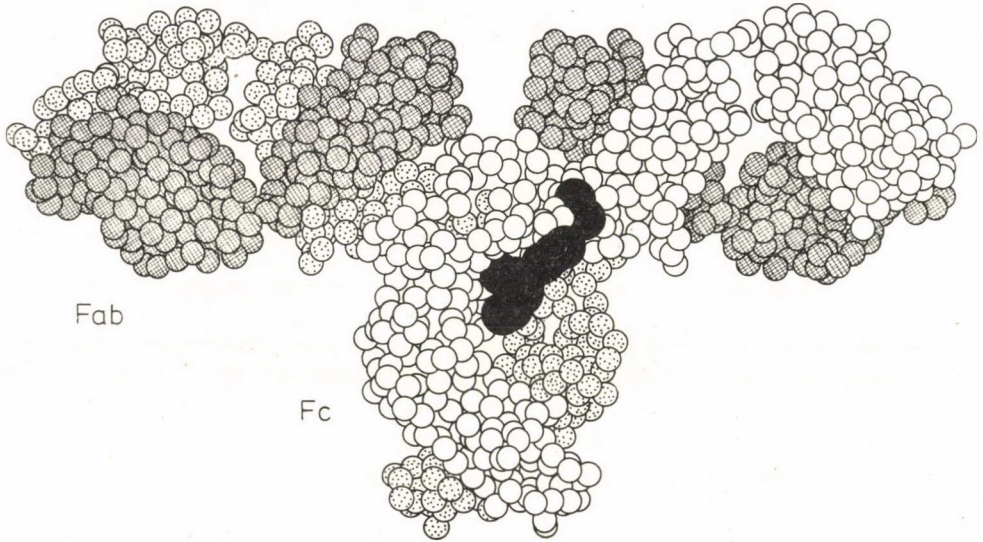
Straub professzor úr bevezető előadásában a biológiai makromolekulák specifikus kölcsönhatásainak jelentőségét hangsúlyozta. Azt hiszem e makromolekuláris kölcsönhatások egyik leglátványosabb példája a molekuláris immunválasz, melynek középpontjában az immunglobulin molekulák állnak. Mielőtt az immunreakciók molekulaszervezeti alapjait illető vizsgálataink részleteire térnék, szeretném röviden összefoglalni az immunglobulinok szerkezetére és az immunválaszban betöltött szerepükre vonatkozó ismereteinket. Előre bocsájtom, hogy ez a kép vázlatos és csak a továbbiak szempontjából rontos fogalmak és ismeretek felelevenítését szolgálja.

Az immunrendszer egyrészt biztosítja a magasabbrendű szervezetek védekezését fertőzések ellen, másrészt különbséget téve a saját és nemsaját struktúrák között védi a szervezet integritását. Az immunreakciók különböző sejt- és molekulaszintű kölcsönhatások szövevényére épülnek. Az utóbbi években jutott el az immunológia tudománya arra a fokra, hogy az immunfolyamatban résztvevő különböző fehérjék szerkezetét és kölcsönhatásait fizikai és kémiai módszerekkel vizsgálva, közelebb jusson az immunreakciók molekuláris mechanizmusának és szerkezeti alapjainak megértéséhez.

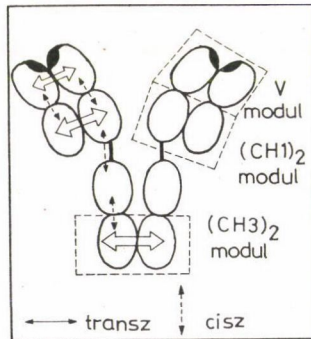
A kutatásaink tárgyát képező immunglobulinok a szervezetbe kerülő idegen anyagok — antigének — hatására képződő szérum fehérjék, amelyek felismerik a képződésüket kiváltó antigéneket és azokkal specifikus kölcsönhatásba lépnek. Ennek hatására beindulnak az ún. effektor funkciók, amelyek az idegen anyag megsemmisítéséhez vezetnek (10, 23, 24).

Az 1. ábra az immunglobulin molekula szerkezetének sémáját mutatja. A molekula szimmetrikus, két ún. nehéz és két könnyű láncból épül fel. Az 1. ábrán látható antitest az immunglobulinok G osztályát reprezentálja, röviden IgG-nek nevezzük. A láncokat diszulfid hidak kapcsolják egymáshoz, az egyes láncszakaszok egymástól jól elhatárolt globuláris doméneket alkotnak, amelyeket egy-egy diszulfid híd is stabilizál. Az egyes doméneket a kovalens kölcsönhatásokon kívül, nemkovalens, másodlagos erők is egymáshoz kötik. Ezek a kölcsönhatások a különböző domének között különböző erősségűek. Irányuknak megfelelően (2. ábra) cisz és transz kölcsönhatásokat különböztetünk meg (3).

Nagyszámú különböző élőlényből izolált és különböző osztályokhoz tartozó immunglobulin aminosav sorrendje ismertes (1, 9, 12, 15) és növekszik a röntgen diffrakciós vizsgálatokból származó térszerkezeti adatok száma is



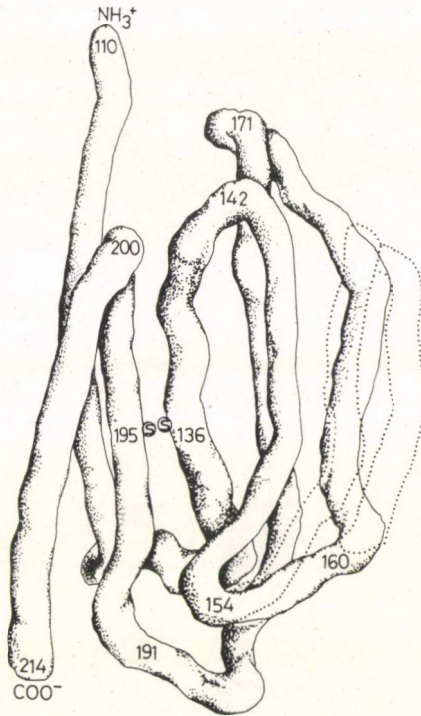
1. ábra. Az emberi IgG1 krioglobulin háromdimenziós szerkezete. Az egyik nehéz lánc fehér, a másik pöttyözött, a könnyűláncok szürkék. A szénhidrát láncot fekete szín jelöli (SILVERTON és mt. után [26])



2. ábra. A domének közötti kölcsönhatások az IgG molekulában (GERGELY<sup>2</sup> után [10])

(8, 13, 21, 26). Ezen ismeretek alapján kirajzolódott az immunglobulin molekulák felépítésének fő elve. A könnyű láncot két globuláris domén alkotja, az egyik az ún. konstans, a másik a variábilis. A nehéz lánc négy domént alkot: az N terminális részen a variábilis, és ezt követően a három konstans domént. A domének térszerkezete igen hasonló egymáshoz és ez a hasonlóság a külön-

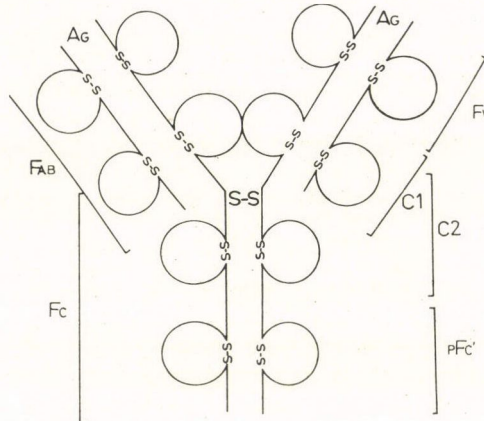
böző eredetű immunglobulinok között is megtalálható (8, 11). A domének vázát az immunglobulin „fold” (3. ábra), egy diszulfidhíddal rögzített kettős béta lemez alkotja, amelynek egyik oldalán három, a másikon négy párhuzamos láncszakasz található. A négyszálas oldal konkáv és gazdag hidrofób oldal-láncokban. A variábilis domének a háromszálas oldalakkal fordulnak egymás felé. Ez a kontaktus gyenge, de a domének összetartásához elegendő köl-



3. ábra. Az ún. immunglobulin „fold”. A folytonos vonal jelöli a polipeptid lánc menetét a konstans doménekben. A szaggatott vonal a variábilis doménekre jellemző kiegészítő íveket mutatja (POLJAK és mt. után [22])

csönhatást biztosít. A könnyű és nehéz lánc konstans doménjei négyszálas oldalukkal fordulnak egymás felé, s erős hidrofób jellegű kölcsönhatások tartják össze őket. A két CH2 domén háromszálas lemezével fordul egymás felé, ez és a két domén között elhelyezkedő cukor lánc megakadályozza összekapcsolódásukat. A CH3 domének között szoros nemkovalens kölcsönhatás van a négyszálas lemezek felszínének részvételével. A molekulát tehát a kapocs régió diszulfid hídján kívül a CH3 domének közötti nemkovalens kölcsönhatások tartják össze. E kölcsönhatásokhoz járul még a C<sub>H</sub>–C<sub>L</sub> és a V<sub>H</sub>–V<sub>L</sub> transz és a domének közötti cisz kölcsönhatás (11, 13, 7) (2. ábra). A különböző szerkezeti domének különböző funkciók hordozói (4. ábra).

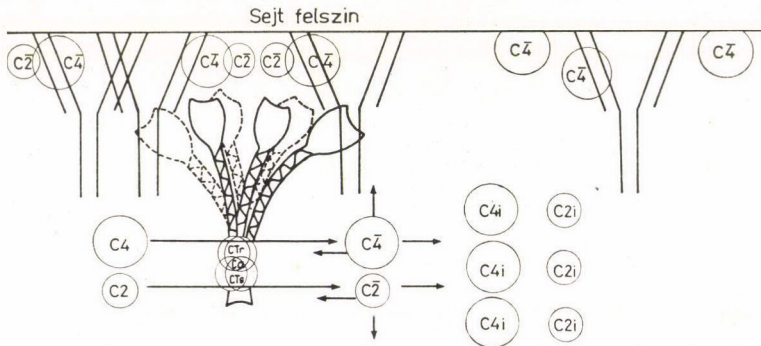
A variábilis domének közösen képezik a két antigén felismerő helyet. Az Fc részen találjuk a másodlagos funkciókat hordozó kötőhelyeket. A CH2 domén a komplement rendszer első komponensét a C1q-t köti, a CH2 és CH3



FUNKCIÓK:

- Fv antigén kötőhely
- C1 nem ismert
- C2 C1q kötőhely
- Fc citofil reakciók

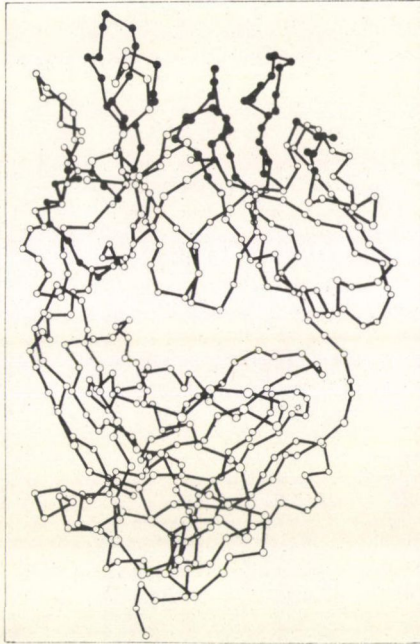
4. ábra. Az IgG molekula különböző doménjeihez tartozó biológiai funkciók összefoglalása



5. ábra. A komplement aktiválás sémája (PORTER után [23])

doménekhez rendelhetjük a citofil funkciókat (24). A komplement rendszer említésénél megszakítanám ezt a gondolatmenetet, hogy néhány szót ejtsek — a jobb megértés kedvéért — a komplement rendszer aktiválásáról és szerepé-

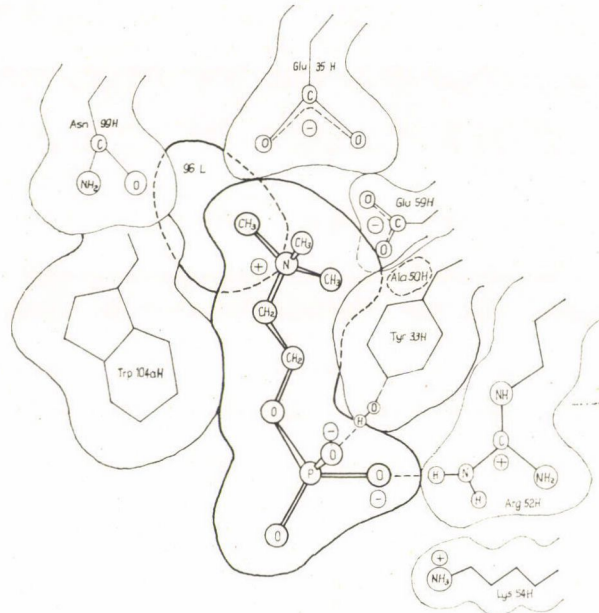
ről. Az immunglobulinok specifikus makromolekulák, szintézisüket az antigén megjelenése indítja meg, a komplementrendszer fehérjéi mindig jelen vannak a vérben, de inaktív formában. Ezek kevésbé specifikus fehérjék, minden antigén esetében egyformán fejtik ki működésüket, mely sok lépés után az antigén megsemmisítéséhez vezet (23). Aktiválásukhoz viszont az antigén-antitest kölcsönhatásra van szükség (5. ábra).



6. ábra. Az McPC 603 immunglobulin Fab részének polipeptid láncá. A V domén felső részén látható fekete körök a hipervariábilis aminosavakat mutatják (DAVIES és mt. után [4])

Az immunglobulinok működésének megértésével kapcsolatban két alapvető kérdés merült fel: az antigén felismerés és a diverzitás szerkezeti alapjainak kérdése, valamint a másodlagos effektor funkciók beindításának mechanizmusára vonatkozó kérdés. Az immunglobulin molekula funkciója az, hogy a vérben egymástól függetlenül keringő molekuláris és sejtés elemeket megfelelő rendszerbe kapcsolja antigén megsemmisítő funkciójuk összehangolt elvégzéséhez, és az elemi folyamatokat megfelelő térbeli és időbeli rendbe szervezve biztosítsa a specifikus és hatékony felismerő és elimináló tevékenységet. Az antigén felismerés kérdésének szerkezeti alapja eddigi ismereteink szerint világosnak tűnik és a szerkezeti komplementaritás elvére épül (11). Az antigén kötő helyet tartalmazó variábilis domének béta lemezeit (6. ábra) az ún. hipervariábilis ívek kapcsolják össze és ezek alkotják

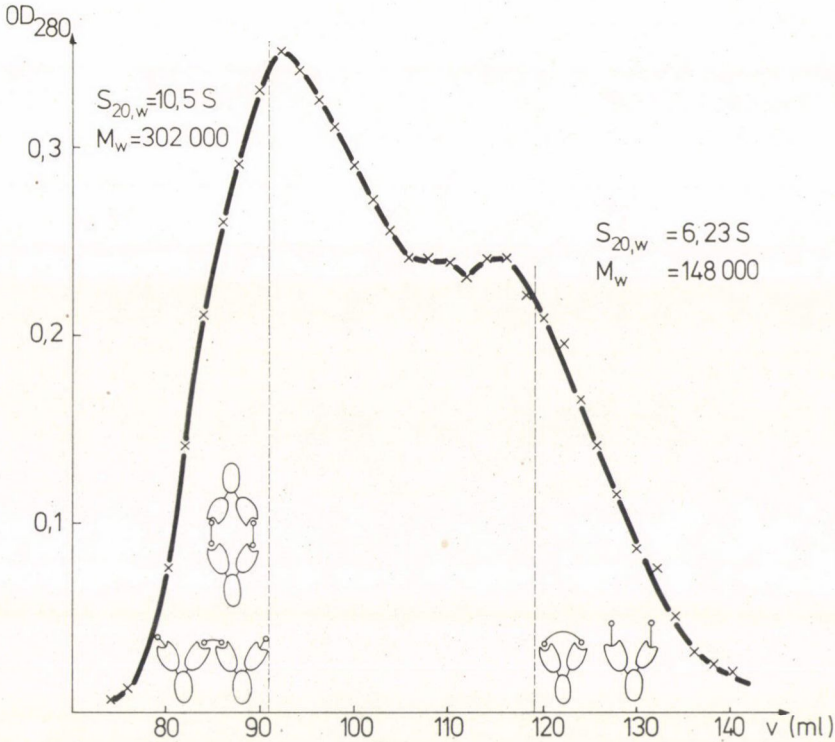
az antigén felismerő kötőhelyet. Röntgen diffrakciós vizsgálatok (20, 25) és nagyfelbontású NMR kísérletek (5) eredményei alapján tudjuk, hogy a kötőhely alakja, töltéseloszlása, a potenciális hidrogén hidak száma és elhelyezkedése biztosítja az antigének jellegzetes csoportjainak nagy affinitású, nem-kovalens megkötését (7. ábra).



7. ábra. Az McPC 603 immunglobulin antigén kötő helyének és a foszforil-kolin hapténnek specifikus kölcsönhatásai, sematikus ábrázolásban (PADLAN és mt. után [20])

Nincs ilyen világos elképzelésünk a molekula Fc részéhez (4. ábra) rendelhető másodlagos, ún. effektor funkciók kérdésében, nem ismerjük a kötőhelyek elhelyezkedését, térszerkezetét, a kötést biztosító kölcsönhatások természetéről is keveset tudunk. Vitatott kérdés, miként közvetíti az antitest molekula az információt az antigén felismerő helyről a távoli, másodlagos komplement kötőhelyre. Nem ismeretes a komplement kötőhely szerkezete és az immunglobulin-komplement kölcsönhatás molekuláris mechanizmusa sem. Az MTA Enzimológiai Intézetében, együttműködve az ELTE Immunológiai csoportjával és az Oxfordi Egyetem Biokémiai Intézetével, érzékeny fizikai módszereket kombinálva kerestünk választ ezekre a kérdésekre.

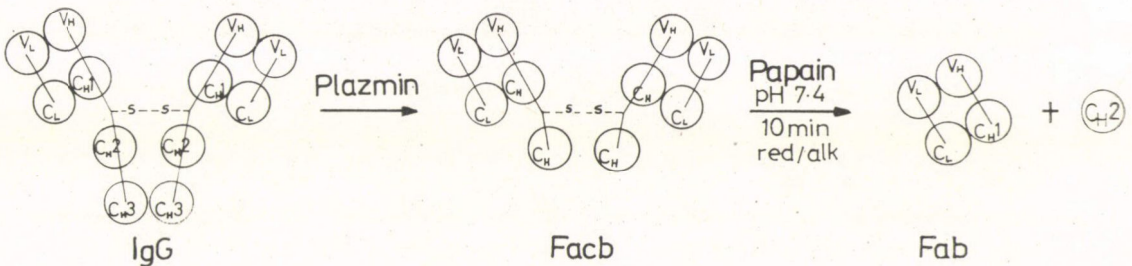
Fontosnak tartom, hogy néhány szót ejtsek vizsgálataink objektumairól, mivel általános a molekuláris immunológiai kutatások területén a heterogén antitestek és a kismolekulasúlyú haptének használata. Vizsgálatainkat homogén indukált anti-poliszaharid immunglobulinnal és monovalens, ill.



8. ábra. Az anti SIII poliszaharid IgG bivalens antigénnel képzett ciklikus monomerjeinek elválasztása az oligomer frakciótól

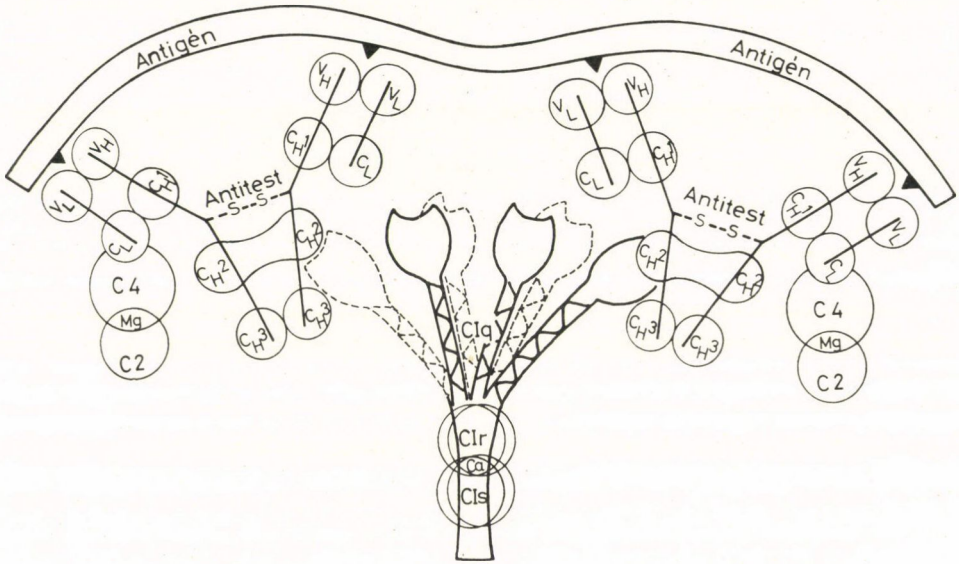
bivalens, térkitöltő poliszaharid antigénnel végeztük (16). A bivalens antigénnel végzett kísérleteinkben a ciklikus monomer frakciót elválasztottuk (8. ábra), ügyelve az oligomerizáció méréseket zavaró hatásának elhárítására (35).

Az immunglobulinok a fizikus számára hálás kísérleti objektumok, mivel az azonos elvek szerint felépített domének, melyek a különböző biológiai funkciókat hordozzák, egymástól enzimatikus úton elválaszthatók (9. ábra)



9. ábra. A CH2 domén előállítása nyúl IgG-ből proteolitikus hasítással [34]

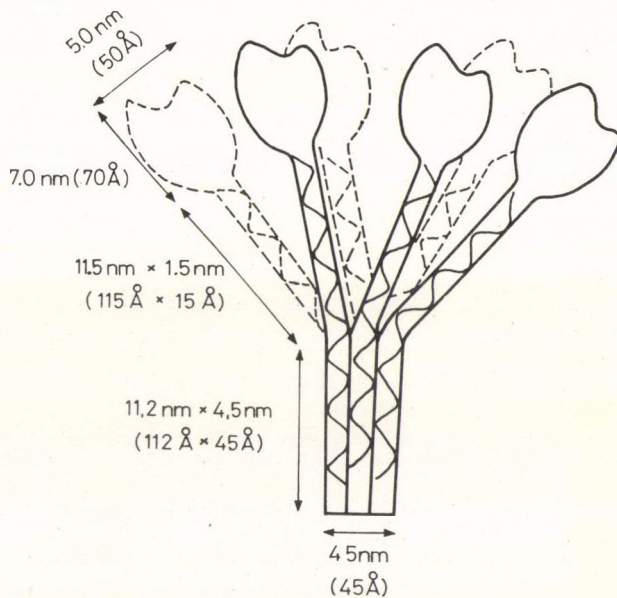
a molekula egy, vagy néhány domént tartalmazó, funkcionálisan aktív fragmentumai izolálhatók (10, 24, 34). Az egyszerűbb szerkezet, a kisebb molekulaméret lehetővé teszi olyan fizikai-kémiai módszerek alkalmazását, amelyek a nagyobb és bonyolult IgG molekula, ill. az immunkomplexek esetén kudarcot vallanak.



10. ábra. A komplement aktiválás első lépéseinek sematikus ábrázolása (PORTER szerint [23])

Mint már említettem az immunglobulin molekula szerepe az, hogy az antigén felismerés és az antigén megsemmisítéséhez vezető másodlagos effektor funkciók térbeli és időbeli rendjét biztosítsa. E bonyolult molekuláris kölcsönhatások mechanizmusának és térszerkezeti alapjainak tisztázása céljából vizsgáltuk milyen szerkezetváltozásokat hoz létre az antigének kötődése az immunglobulin molekulák szerkezetében, s miként reagálnak a „felismerésre” az effektor funkciókat hordozó távolabbi kötőhelyek. Mielőtt e vizsgálatok részleteire kitérnék, röviden összefoglalnám a komplement aktiválás klasszikus útjának első lépéseit (10. ábra). Mi e soklépcsős, komplikált folyamat (23) első lépésére a C1q—IgG kölcsönhatás kialakulásának mechanizmusára összpontosítottuk figyelmünket. A C1q molekula egy hat szál tulipánból álló virágcsokorhoz hasonlít, amelynek méreteit és szerkezetének sémáját mutatja a 11. ábra. A 12. ábrán a C1q molekula elektronmikroszkópos képe látható (17). A virágszerű képződmények szárai kollagén jellegűek, a globuláris fejek kapcsolódnak az antigén-IgG komplexhez. A komplement rendszer első komponensének a C1q-nak és az antigén-antitest komplexnek a kölcsönhatását mutatja a 13. ábra, amelyen azt is megpróbáltam szemléltetni, hogy a komp-





11. ábra. A C1q molekula szerkezete és méretei

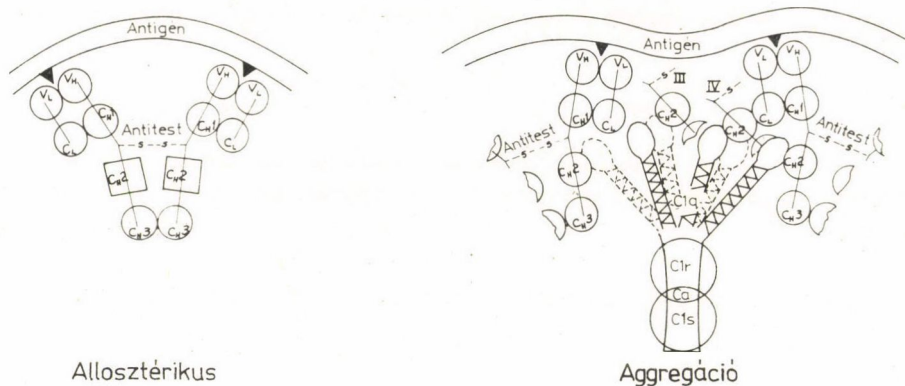


C1q molekula elektronmikroszkópos képe

100 Å

12. ábra. Elektron-mikroszkópos felvétel a C1q molekuláról. (KNÖL BE és mt. felvétele [17])

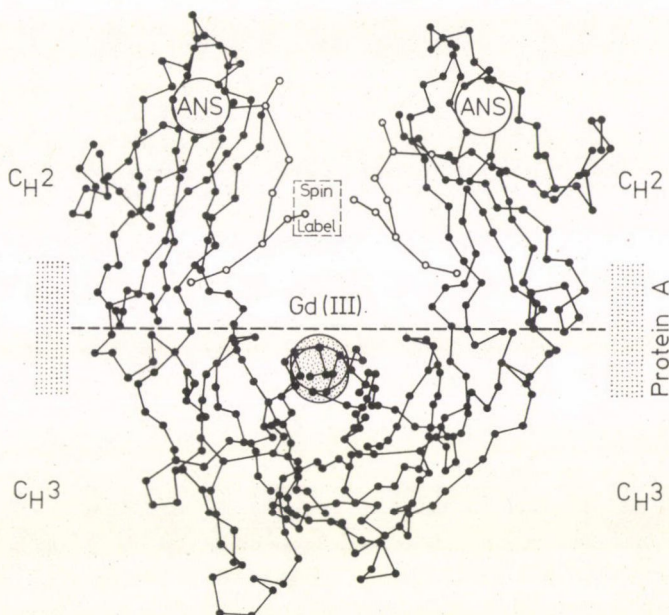
lement kötés iniciálását illetően az aggregációs és allosztérikus mechanizmust feltételező elképzelések állanak ma egymással szemben (19). Az antigén kötés által indukált konformációváltozások funkcionális jelentőségét, sőt sokan azok tényét is vitatják. Vizsgálataink során a különböző fizikai próbák alkalmazásával kerestünk választ arra a kérdésre: okoz-e kimutatható változást az Fab antigén kötőhelytől meglehetősen távoli (7,0 nm) komplement kötő Fc fragmentum szerkezetében az antigén megkötése. Olyan specifikus külső riporter csoportokat igyekeztünk elhelyezni, melyek specifikusan az Fc mole-



13. ábra. Az antigén-antitest-Clq kölcsönhatás sematikus vázlatja

kularész valamely ismert helyére kötődnek és amelyeknek valamely mérhető fizikai tulajdonsága érzékeny a hordozó molekula térszerkezetének változásaira. Hosszas, de végül eredményes próbálkozás után a 14. ábrán látható, háromféle ilyen riporter csoportot sikerült elhelyezni (6, 33). A CH<sub>2</sub> doménekhez csatlakozó poliszaharid lánc terminális szíalsav részére párosítatlan spinű nitroxid csoportot, ún. spinjelet, a CH<sub>3</sub> domének érintkezési felületére háromértékű gadolinium iont, vagyis paramágneses próbát és a CH<sub>2</sub> domének külső konkáv, hidrofób felszínére fluoreszcens, nemkovalensen kötődő 1-anilino naftalén-8-szulfonsav molekulát. Az ESR és NMR jelekben nem tapasztaltunk változást az antigén kötés során. Mivel ezek a jelek igen nagy pontossággal mérhetőek és nagyon érzékenyek a környezet változásaira, egyértelmű a következtetés, hogy a cukor-lánc mozgékonyágában és az a CH<sub>3</sub> domének relatív helyzetében és kapcsolatában nincs változás. Bár negatív, de fontos adatok ezek, mert ugyan nem zárják ki a konformációváltozás tényét, de arra utalnak, hogy drasztikus változásokról és jelentős szerkezeti átrendeződésről nincsen szó. Ezt a képet támasztották alá kisszögű röntgenszórásos (15. ábra) és differencia szedimentációs vizsgálataink is (35). A detektált csekély változás a hidrodinamikai paraméterekben arra utal, hogy nincs

jelentős változás a molekula térfogatában és a domének térbeli elrendezésében. Az érzékenyebb kisszögű röntgen szórásos vizsgálatok is megerősítették ezt. A fluoreszcens próba féléletidejében viszont jól mérhető változást tapasztaltunk, ami a hidrofób kötőhely szerkezetének antigén hatására történő megváltozására utal. — A térszerkezet egészének állapotát tükröző statisztikus információt szolgáltatató módszerekkel, mint pl. ORD, CD és infravörös spekt-

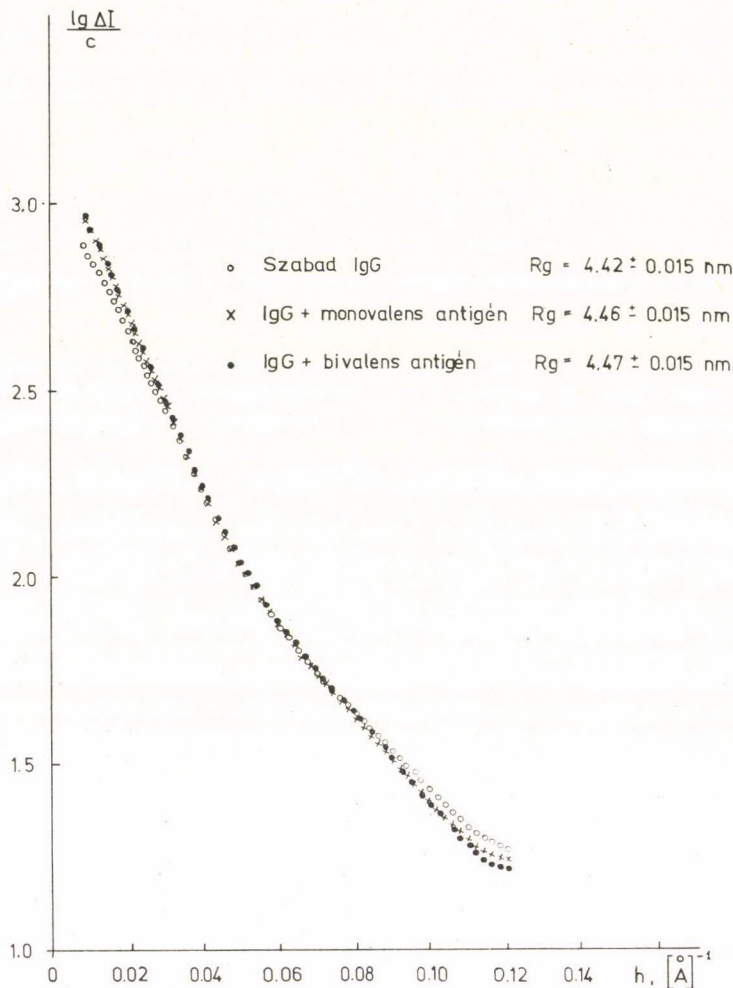


14. ábra. Riporter csoportok az Fc molekula fragmentumon. (ANS: 1-anilino-naftalén-8-szulfonsav; Protein A: *Staphylococcus aureus* protein A, monovalens fragmentum; spin label: kovalens kötésben levő nitroxil szabad gyök [6])

roszkópia, nem tudtunk ligand indukálta konformáció változásokat kimutatni. Természetesen az, ha egy bizonyos módszerrel nem vagyunk képesek valamilye jelenséget érzékelni, az nem jelenti azt, hogy az illető jelenség nem létezik. Tudva, hogy drasztikus átrendeződés a molekulán belüli atomi pozíciókban nem következik be antigén hatására, másjellegű és érzékenyebb fizikai módszerek felé fordultunk.

Mint már a bevezető előadásban erre utalás történt, s mint erről részletesen hallani fogunk Damjanovich professzor előadásában, a fehérje molekulák a szerkezetüket stabilizáló erők természeténél fogva nem merev mozdulatlan konstrukciók, hanem — legalábbis fiziológias hőmérsékleten — örökös nyüzsgésben lévő szerkezetek, s az általunk lerajzolt, megépített, röntgen diffrakcióval meghatározott térszerkezet csak egy egymással gyors

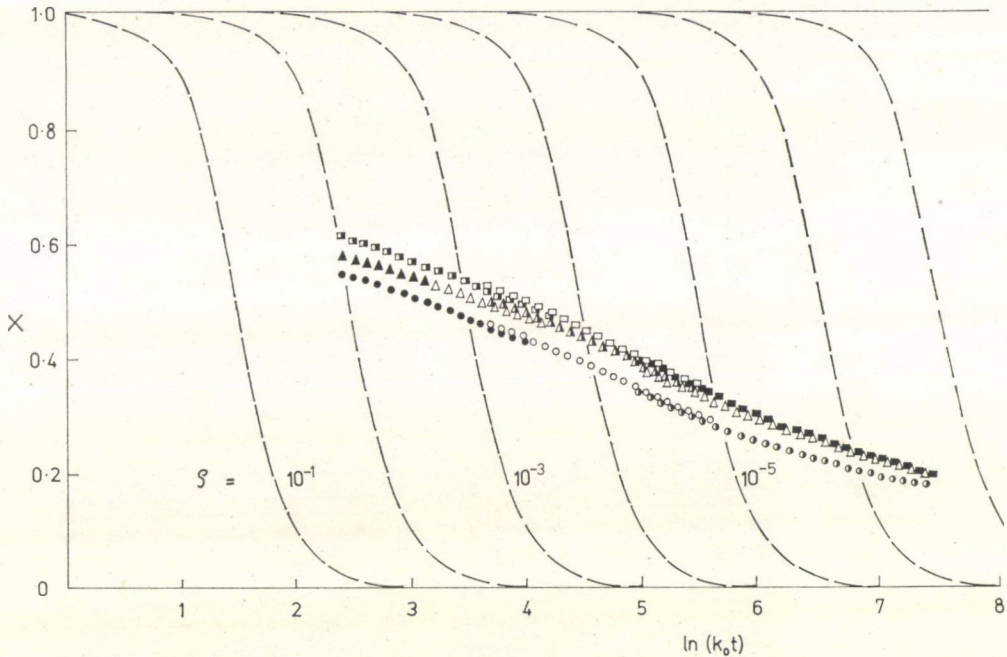
egyensúlyban lévő konformációhalmaz átlagértéke (18, 27, 29, 31). Így e molekulák szerkezetének pontosabb leírásánál a dinamikus tulajdonságokat sem szabad figyelmen kívül hagynunk. E dinamikus tulajdonságok megváltozásának funkcionális hatása lehet jelentős anélkül, hogy az átlagértékek mérhető



15. ábra. Monovalens és bivalens antigének kötődésének hatása az anti SIII poliszaharid IgG girációs sugarára. Az ábrán a szórt röntgen sugárzás intenzitásának logaritmusát ábrázoltuk a szórási szög [16] függvényében, kollimációs korrekció után

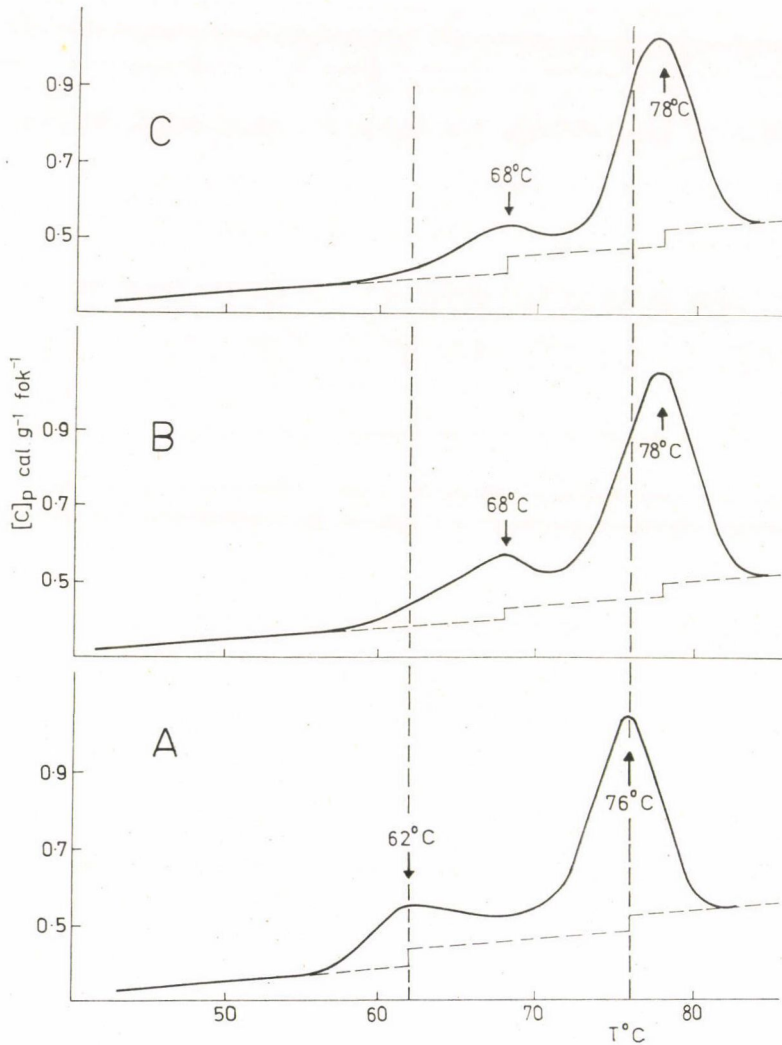
megváltozását okozná. A dinamikus tulajdonságok mérésére és összehasonlítására alkalmas érzékeny módszer a hidrogén-izotóp kicserélődés, amely a molekula belsejében nagy valószínűséggel eltemetett peptid hidrogének expozíciójának valószínűségét méri (14, 32). Másként fogalmazva információt

szolgáltat azoknak a konformációs fluktuációknak az egyensúlyi és sebességi állandóiról, amelyek révén ezek az eltemetett csoportok időnként a felszínre kerülnek. A hidrogén-deutérium kicserélődési kísérletek eredményeit az ún. relaxációs spektrumokban foglalhatjuk össze legszemléletesebben (28, 30). Ezek a relaxációs spektrumok (16. ábra), tulajdonképpen eloszlás-függvények és azt mutatják meg, hogy egy fehérje molekulában, esetünkben az IgG molekulában, a peptid hidrogének mely hányada, milyen valószínűséggel kerül



16. ábra. A monovalens és bivalens antigének kötődésének hatása a nyúl IgG relaxációs spektrumára. A szabad IgG-t körök, az IgG-monovalens antigén komplexet háromszögek, az IgG-bivalens antigén komplexet négyzetek jelölik. A méréseket három pH értéknél végeztük: a teli jelek pH 5.42, az üresek pH 7.25 — a félteli jelölések pH 8.52 értéket jelölnek. A hőmérséklet 298 °K. X a még ki nem cserélődött peptid hidrogének arányát jelöli,  $k_0$  a kicserélődés kémiai sebességi állandója,  $t$  a kicserélődés kezdetétől eltelt idő. A szaggatott vonalak olyan hipotetikus polipeptidek kicserélődési görbéi, melyek azonos,  $q$  valószínűséggel exponálják peptid hidrogénjeiket az oldószer számára [35]

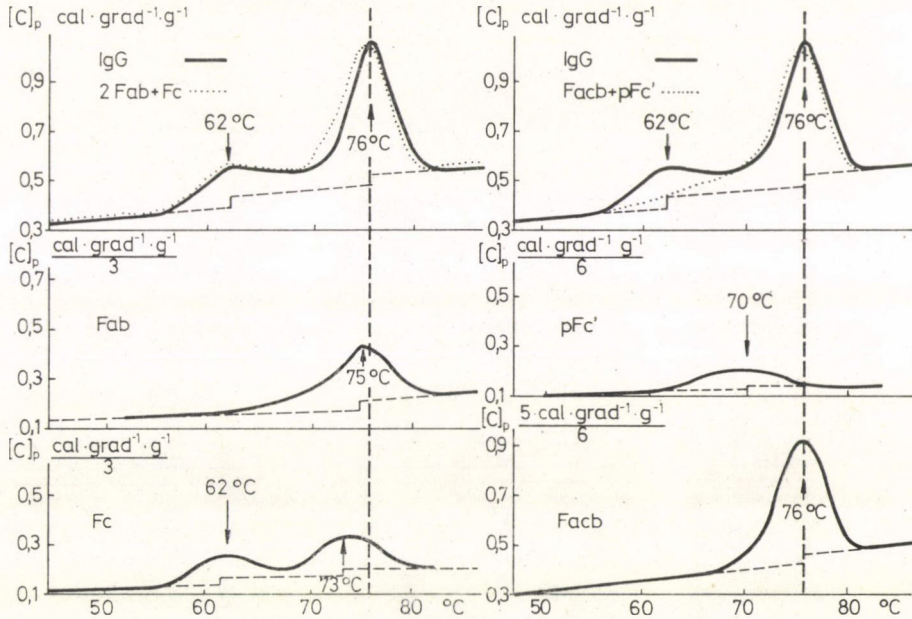
kontaktusba az oldószerrel. Ha egy molekula konformációs motilitása csökken, ill. astabilitása nő, ez az eloszlás-függvény eltolódik a kisebb valószínűségek irányába. A 16. ábrán a szaggatott vonalak hipotetikus polipeptideket jelképeznek, amelyek kooperatív átmenetek útján, az ábrán rendre feltüntetett  $q$  valószínűséggel exponálják peptid hidrogénjeiket az oldószer számára. A berajzolt mérési adatok jól mutatják, hogy az IgG molekula peptid hidrogénjeit nem kooperatív lokális fluktuációk útján hozza érintkezésbe az oldó-



17. ábra. A parciális hőkapacitás hőmérsékletfüggése. A) Szabad nyúl immunglobulin, B) Monovalens poliszaharid antigénnel képzett komplex, C) Bivalens poliszaharid antigénnel képzett komplex (monomer frakció [5])

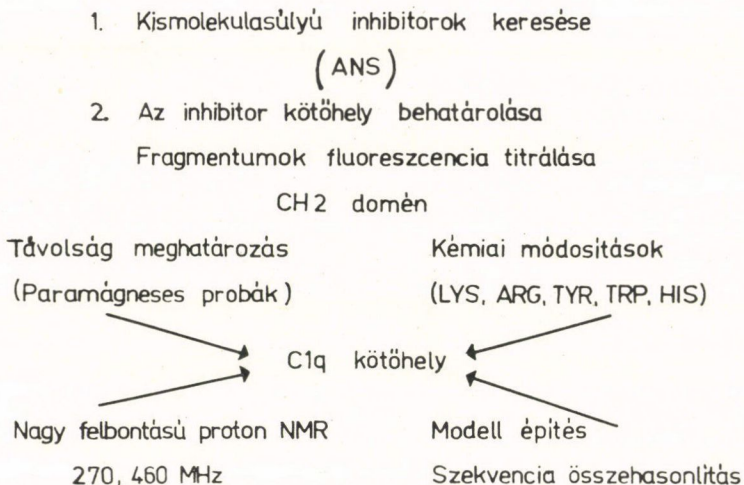
szerrel. Látszik, hogy antigénkötés hatására a molekula konformációs motilitása csökken, s az is, hogy ez a változás az összes, mérhető sebességgel cserélődő, tehát nem felszíni peptid hidrogént érinti. Érthető, hogy a statisztikus módszerekkel nem, vagy csak éppen hogy kimutatható szerkezetváltozások ilyen eklatánsan jelentkeznek a relaxációs spektrumban, hisz ha a valószínűségeket feltüntető skálára nézünk, láthatjuk, hogy kis valószínűségű események gyakoriságának viszonylag nagy változásairól van szó.

Az, hogy egy nyitott konformer egy milliomod, vagy tízmilliomod valószínűséggel fordul elő az átlagérték szempontjából legtöbb fizikai mérés pontossága esetén közömbös, a relaxációs spektrumban, vagy valamely a fluktuációkkal összefüggő funkcióban viszont ez már egy nagyságrend változást jelent. Ezért szeretném felhívni a figyelmet a detektált antigén indukálta motilitás változások esetleges funkcionális jelentőségére, és megismételni, hogy ezek a dinamikus tulajdonságbeli változások a IgG molekula egészére kiterjednek (35).



18. ábra. A nyúl IgG és különböző proteolitikus fragmentumai parciális hőkapacitásának hőmérséklet függése

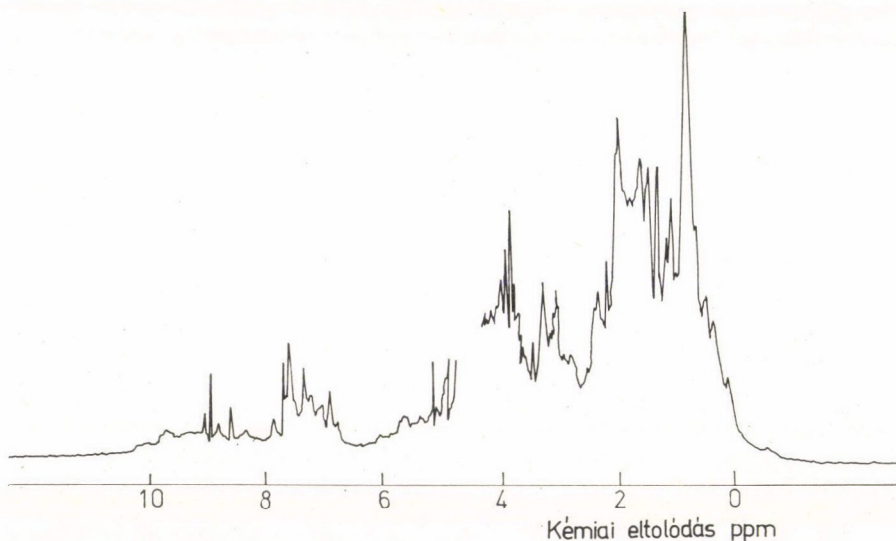
Másik érzékeny indikátora a térszerkezetváltozásoknak a hőkapacitás hőmérsékletfüggésének mérése adiabatikus mikrokaloriméterrel. A H–D kicserélődéssel kimutatott jelenség a hődenaturációs görbéken jelentkező átmeneti hőmérsékletek értékében, vagyis a konformációs stabilitás megváltozásában is tükröződik. Mint látható a 17. ábrából, az antigének hatására elsősorban az alacsonyabb hőmérsékleten mutatkozó átmenet —, amely a CH<sub>2</sub>—CH<sub>3</sub> domének közötti kapcsolat erősödésének felel meg —, tolódik el. Ennek az átmenetnek az azonosítását különböző fragmentumokkal végzett kísérleteink (18. ábra) tették lehetővé (35). Ez az átmenet csak az intakt IgG molekulában és a Fc fragmentumban észlelhető, vagyis ahol megvan a CH<sub>2</sub>—CH<sub>3</sub> kölcsönhatás. Ezek a kísérletek azért jelentősek, mert először demonstrál-



19. ábra. A nyúl IgG komplement kötőhelyének feltérképezésére irányuló munka stratégiája

ták egyértelműen és kvantitatív módon a CH<sub>2</sub>–CH<sub>3</sub> cisz kölcsönhatások létét s azt, hogy ezt az antigén kötőhelytől távoli kontaktust az antigén kötődése befolyásolja.

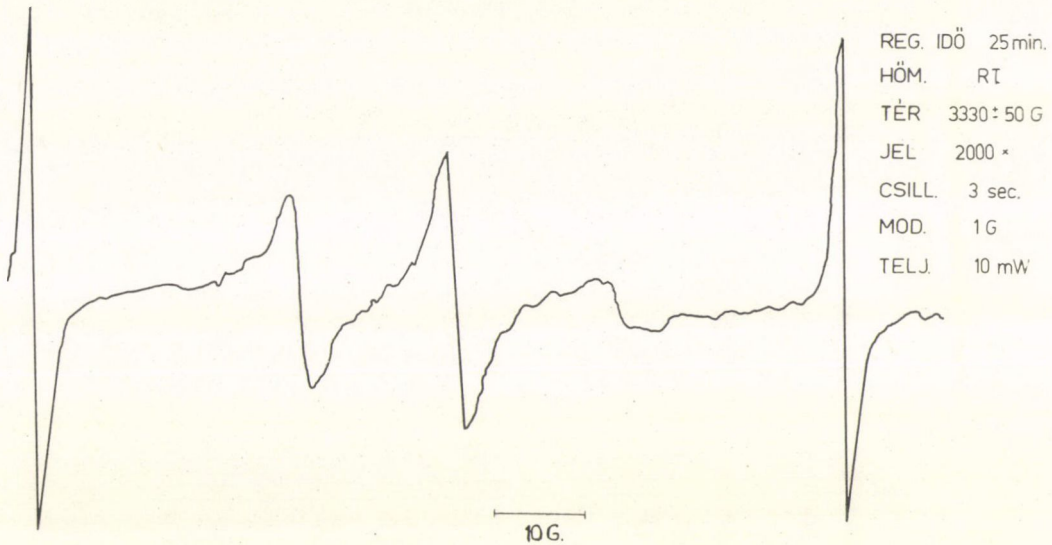
Az antigén hatására bekövetkező funkcionális jelentőségű konformációváltozások kimutatására és a domének közötti információ átadás mechanizmusának felderítésére irányuló vizsgálataink egyik „mellékterméke” volt a komplement kaskád első elemének, a C1q kötőhelyének a CH<sub>2</sub> doménen belüli lokalizálása. E munka stratégiáját a 19. ábra szemlélteti. Kombináltuk



20. ábra. A nyúl IgG Fc fragmentumának 270 MHz proton NMR spektruma [2]



a szekvencia összehasonlítás, a modell-építés, a kémiai módosítások és a fizikai és affinitás próbák módszerét a kötőhely feltérképezésére. Első lépésben kis molekulású, Clq kötést gátló vegyületeket kerestünk. Az 1-anilino-naftalén-8-szulfonsav hidrofób fluoreszcens próba ilyen vegyületnek bizonyult. Nagy felbontású NMR titrálással (20. ábra), távolság meghatározásokkal, spin és paramágneses próbák segítségével (21. ábra), affinitás próbával, és kémiai módosításokkal (22. ábra) jutottunk el odáig, hogy a



21. ábra. Spin jelölt nyúl IgG ESR spektruma

kötőhely CH<sub>2</sub> doménon belüli helyét (23. ábra) a kötésben résztvevő néhány oldalláncot és a kötés természetét meghatározhattuk.

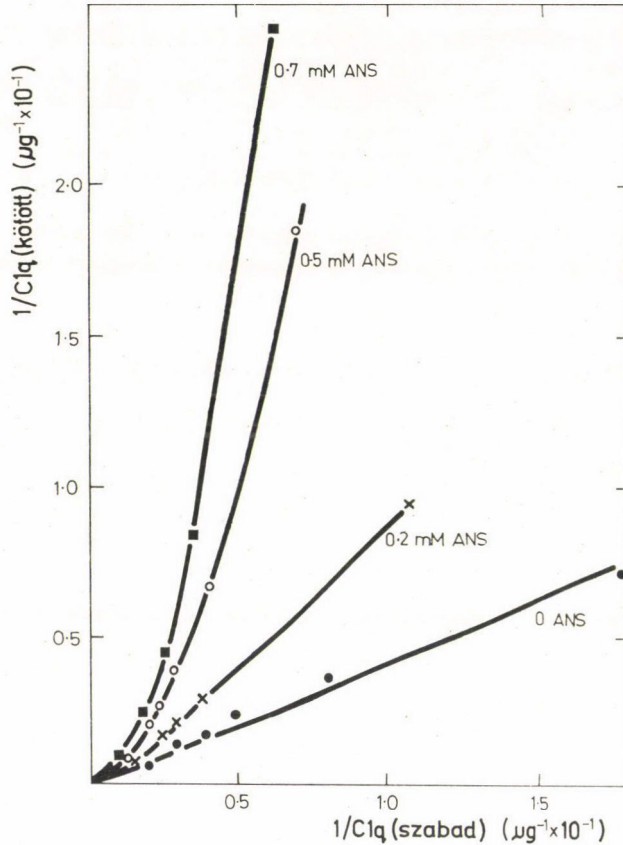
Összefoglalásként azt szeretném még egyszer kiemelni, hogy az antigén felismerés és a komplement aktiválás között kapcsolatot teremtő bonyolult makromolekulák, az immunglobulinok funkciójával kapcsolatos szerkezetváltozásait fizikai-kémiai szempontból jól jellemezhető oldott állapotú, és a kísérlet típusától függő mértékben leegyszerűsített molekulafragmentumokon és komplexeken vizsgáltuk.

A módszereket úgy választottuk meg, hogy egymást kiegészítő információt szolgáltatassanak. Szemléletünket az jellemezte, hogy funkcionális kölcsönhatások vizsgálatánál szem előtt tartottuk a makromolekulák flexibilitását és dinamikus tulajdonságait.

A Clq kötőhely feltérképezése mellett kimutattuk, hogy az antigén stabilizáló hatása a molekula Fc részére is kiterjed, vagyis a komplement kötőhelyet tartalmazó domén mintegy „érezkeli” az antigén jelenlétét. Lehet-

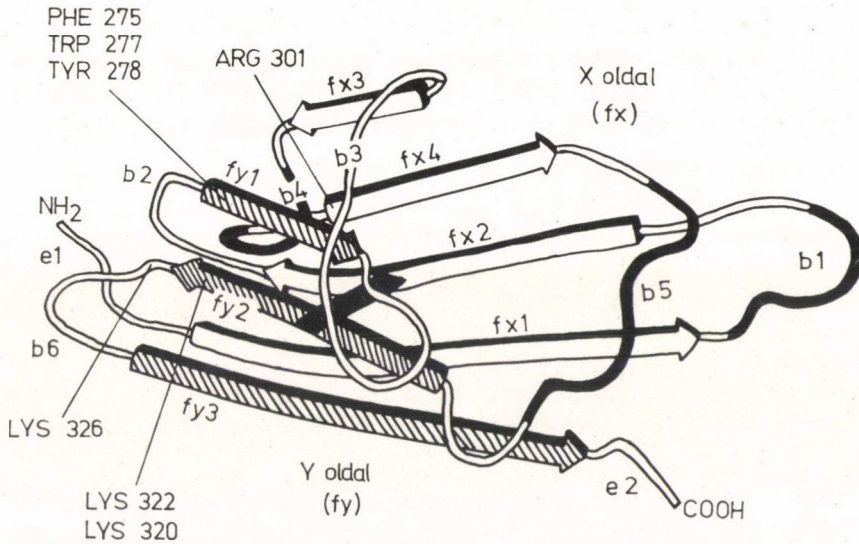
ségesnek tűnik, hogy a szerkezet dinamikus tulajdonságaiban észlelt változás része a komplement kötőhely aktiválásának.

E komplex munka bemutatásával az volt a célom, hogy szemléltessem miként lehet a fizika elveinek és módszereinek alkalmazásával közelebb jutni bonyolult biológiai rendszerek működésének megértéséhez.



22. ábra. Az 1-anilino-naftalén-8-szulfonsav fluoreszcens inhibitor hatása a  $^{125}\text{I}$  radioaktív izotóppal jelölt C1q antigén-antitest aggregátumokhoz való kötődésére

Szeretném végezetül megemlíteni, hogy ez a közös munka Rodney R. Porter, Straub F. Bruno és Gergely János professzorok bátorítására indult és a kivitelezésben résztvettek Medgyesi György, Rajnavölgyi Éva, Kilar Ferenc, Török Judit, Neubauer József; Raymond A. Dwek, Simon Easterbrook-Smith, Jonathan Boyd (Oxford); Szergej Yu. Venyaminov (Pucchino) és Jean-Claude Jaton (Genf).



23. ábra. A valószínűsített Clq kötőhely elhelyezkedése a CH<sub>2</sub> doménon belül és a kötőhely felépítésében résztvevő aminosav oldalláncok

IRODALOM

1. BEALE, D. és FEINSTEIN, A.: Q. Rev. Biophys. **9**, 135 (1976).
2. BOYD, J., EASTERBROOK-SMITH, S. B., ZÁVODSZKY, P., MOUNTFORD-WRIGHT, C. és DWEK, R. A.: Mol. Immunology **16**, 851 (1979).
3. COHEN, S. és MILSTEIN, C.: Adv. Immunol. **7**, 1 (1967).
4. DAVIES, D. R., PADLAN, E. A. és SEGAL, D. M.: Cont. Top. Mol. Immunol. **4**, 127 (1975).
5. DWEK, R. A., WAIN-HOBSON, S., DOWER, S., GETTINS, P., SUTTON, B., PERKINS, S. J. és GIVOL, D.: Nature **266**, 31 (1977).
6. EASTERBROOK-SMITH, S. B., ZÁVODSZKY P., WILLAN, K. J., GETTINS, P. és DWEK, R. A.: Biochemical Society Transactions 57th Meeting, Oxford **6**, 1126 (1978).
7. EDMUNDSON, A. B., ABOLA, E. E., ELY, K. R., FIRCA, J. R., PANAGIOTOPOULOS, N. C., SCHIFFER, M. és WESTHOLM, F. A.: in Haber E. and Krause R. (eds): Antibodies in Human Diagnosis and Therapy, Raven Press, New York 135 (1979).
8. FEINSTEIN, A. és BEALE, D.: in Glynn, L. E. és Stewards, M. W.: (eds): Immunochemistry: An Advanced Text-Book, John Wiley, Chirchester 263 (1977).
9. FISCHER, C. H. és PRESS, E. M.: Biochem. J. **139**, 135 (1974).
10. GERGELY, J.: Immunbiológia, Medicina, Budapest (1979).
11. GIVOL, D.: in Lennox, E. S. (ed): Defense and Recognition, Structural Aspects, International Review of Biochemistry University Park Press, Baltimore **23**, 71 (1979).
12. GOETZL, E. J. és METZGER, H.: Biochemistry **11**, 3647 (1970).
13. HUBER, R., DEISENHOFER, J., COLMAN, P. M., MATSUSHIMA, M. és PALM, W.: in Melchers, F. and Rajewsky, K. (eds): The Immune System, Colloquium Mosbach, Springer-Verlag, Berlin **27**, 26 (1977).
14. HVIDT, Aa. és NIELSEN, S. O.: Adv. Protein. Chem. **21**, 287 (1966).
15. KABAT, E. A.: Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry Ed. 2. Holt, Reinhart and Winston, New York (1976).
16. KIMBALL, J. V., PAPPENHEIMER, A. N. és JATON, J. C.: J. Immunol. **106**, 1177 (1971).
17. KNOBEL, H. R., VILLEGER, W. és ISLIKER, H.: Eur. J. Immunol. **5**, 78 (1975).
18. LINDERSTRÖM-LANG, K. M. és SCHELLMAN, J. A.: in Boyer, P. D., Lardy, H. and Myback, K. (eds): Protein Structure and Enzyme Activity, The Enzymes, **11**. ed., Academic Press, New York **1**, 443 (1959).
19. METZGER, H.: Recent Studies in Contemporary Topics of Mol. Immunol. **8**, 119 (1978).
20. PADLAN, E. A., DAVIS, D. R., RUDIHOFF, S. és POTTER, M.: Immunochemistry **13**, 945 (1976).

21. POLJAK, R. J.: *Adv. Immunol.* **21**, 1 (1975).
22. POLJAK, R. J.: *CRC Critical Reviews in Biochemistry* **5**, 45 (1978).
23. PORTER, R. R.: in Lennox, E. S. (ed): *Defense and Recognition, Structural Aspects, International Review of Biochemistry*, University Park Press, Baltimore **23**, 177 (1979).
24. SECHER, D. S.: *International Review of Biochemistry*, University Park Press, Baltimore **23**, 1 (1979).
25. SEGAL, D. M., PADLAN, E. A., COHEN, G. A., RUDIKOFF, S., POTTER, M. és DAVIES, D. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **71**, 4298 (1974).
26. SILVERTON, E. W., NANIA, H. A. és DAVIES, D. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**, 5140 (1977).
27. STRAUB, F. B.: *Adv. Enzymol.* **26**, 89 (1964).
28. VÉNYAMINOV, S. YU., RAJNAVÖLGYI, É., MEDGYESI, Gy. A., GERGELY, J. és ZÁVODSZKY, P.: *Eur. J. Biochem.* **67**, 81 (1976).
29. WILLIAMS, R. P. J.: *Angew. Chem. Int. Ed.* **16**, 766 (1977).
30. WILLUMSEN, L.: *Biochem. Biophys. Acta* **126**, 382 (1966).
31. ZÁVODSZKY P., ABATUROV, L. H. és VARSHAVSKY, Y. M.: *Acta Biochim. et Biophys. Acad. Sci. Hung.* **1**, 389 (1966).
32. ZÁVODSZKY, P., JOHANSEN, J. T. és HVIDT, Aa.: *Eur. J. Biochem.* **56**, 67 (1975).
33. ZÁVODSZKY, P., BOYD, J., EASTEDBROOK-SMITH, S. B. és DWEK, R. A.: *Triggering of Phagocytic Cells, Proc. of Joint Meeting of the Biochemical Immunology Group of the British Biochemical Society and the British Society for Immunology With the Austria Society for Allergology and Immunol. and the Hungarian Soc. for Immunol., Székesfehérvár* **40** (1979).
34. ZÁVODSZKY, P., EASTERBROOK-SMITH, S. B. és DWEK, R. A.: *Mol. Immunol.* **16**, 899 (1979).
35. ZÁVODSZKY P., JATON, J. C., VÉNYAMINOV, S. YU. és MEDGYESI, Gy. A.: *Increase of Conformational Stability of Homogenous Rabbit Immunoglobulin G after Antigen Binding, Mol. Immunol.* **18** 39 (1981).