

SZÉKFOGLALÓK A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIAÁN

HOLLÓSI MIKLÓS
KIROPTIKAI
SPEKTROSKÓPIA:
VÁLTOZATOK EGY TÉMÁRA



1825

Szerkesztő
GLATZ FERENC

Olvasószerkesztő
Pótvó János

ISBN 963 508 211 8
ISSN 1419-8959

Kiadja
a Magyar Tudományos Akadémia, 2000
Felelős kiadó: Szabó B. István
Kiadói szerkesztő: Burucs Kornélia
Nyomdai előkészítés: MTA Történettudományi Intézete kiadványcsoportja
Tördelő: Csányi Attila
Nyomdai munkálatok: AKAPRINT Nyomdaipari Kft.
Felelős vezető: Freier László ügyvezető igazgató

Hollósi Miklós

az MTA levelező tagja

Kiroptikai spektroszkópia: változatok egy témára

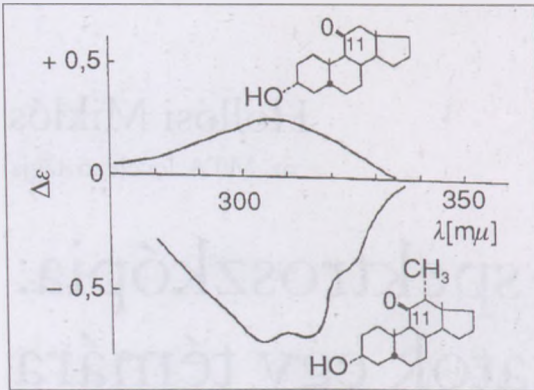
Elhangzott 1998. december 15-én

Előadásom címe kiroptikai spektroszkópiai munkáimról szóló beszámolótl ígér. Bevezetésként megpróbálok választ adni arra a kérdésre, hogy mit is értünk kiroptikai tulajdonságokon és kiroptikai spektroszkópián.

Kiroptikának nevezzük az anizotóp (polarizált) fény és a királis anyag bomlás-sal nem járó kölcsönhatásán alapuló módszereket, amelyek alkalmasak enantiomerek megkülönböztetésére. A síkban polarizált fény két cirkulárisan polarizált komponensre bontható, ezek különböző sebességgel haladnak át egy királis közegen, a *fénytörés anizotrópiája* a Fresnel-egyenlet értelmében optikai forgatóképeséget eredményez. Egyetlen vagy néhány diszkrét hullámhosszon vizsgálva a jelenséget, *optikai aktivitásról* beszélünk, a forgatóképeség hullámhosszfüggése pedig az *optikai rotációs diszperzió* (ORD). Ha egy elektronátmenet gerjesztéséhez szükséges hullámhossztartományban a Lambert–Beer-összefüggésben szereplő extinkciós koefficiens, az ϵ hullámhosszfüggését mérjük mindkét – balra és jobbra – cirkulárisan poláris komponens esetében, úgy a *fényelnyelés anizotrópiájának* hullámhosszfüggése a *cirkuláris dikeroizmus* (CD).

$$\Delta\epsilon = \epsilon_b - \epsilon_j$$

Az optikai forgatóképeség mérésén alapul többek között a monoszacharidok relatív konfigurációjának meghatározása. A polarimetria zseniális alkalmazása E. Fischer nevéhez fűződik, aki végső soron a *forogat vagy nem forogat* kérdés megválaszolásával határozta meg a monoszacharidok teljes sorozatának relatív konfigurációját.



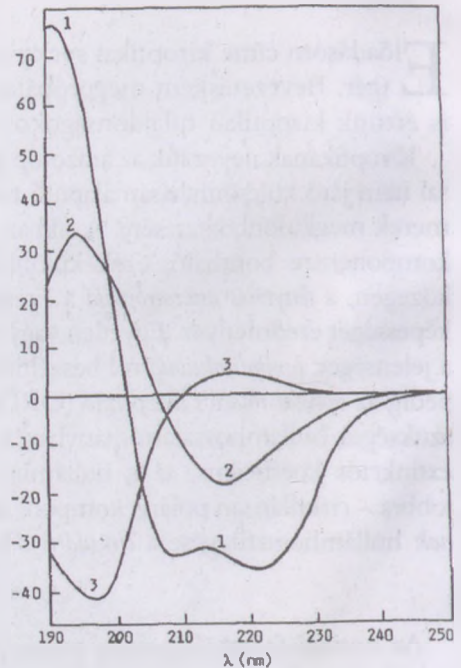
1. ábra. Az oxocsoporttal szomszédos axiális helyzetű metilcsoport hatása a 3 α -hidroxil-11-oxo-5 α -androsztán CD-spektrumára

meghatározásával kezdődött. Mint a 2. ábrán látható, az α -hélix, β -redőzött réteg és rendezetlen (random coil) konformáció CD-spektruma jellegzetesen különbözik egymástól, a vizsgált fehérje vagy polipeptid CD-spektrumának dekonvolúciója már az 1960-as évek végén lehetőséget nyújtott a fenti konformációk részarányának meghatározására (2).

A kiroptikai spektroszkópia – a spektrumokban rejlő térkémi információk gazdasága következtében – az NMR előtti korszak legfontosabb szerkezetanalitikai módszerévé vált. A számítástechnika fejlődése, majd a személyi számítógépek általános elterjedése újabb fellendülést hozott. A fegyvertárat az elméleti kémiai számítások tették teljessé, lehetővé téve a spektrumok értelmezését, sőt egyszerűbb esetben kiszámítását. Az α -hélix CD-spektrumának $\pi\pi^*$ tartományá-

A kiroptika egyik kezdeti sikere a ketoszteroidok és tágabb értelemben a királis gyűrűs ketonok sztereokémiai viszonyainak tisztázása volt. Az 1. ábrán látható CD-spektrumok az oxocsoportot azonos helyzetben tartalmazó molekulákhoz tartoznak, az $n\pi^*$ sáv ellentétes előjele a metilcsoport jelenlétével és térállásával magyarázható (1).

A CD-spektroszkópia diadalútja a peptidok és fehérjék másodlagos szerkezetének



2. ábra. Az α -hélix (1), β -redőzött réteg (2) és rendezetlen (3) másodlagos szerkezetű fehérjék CD-spektruma

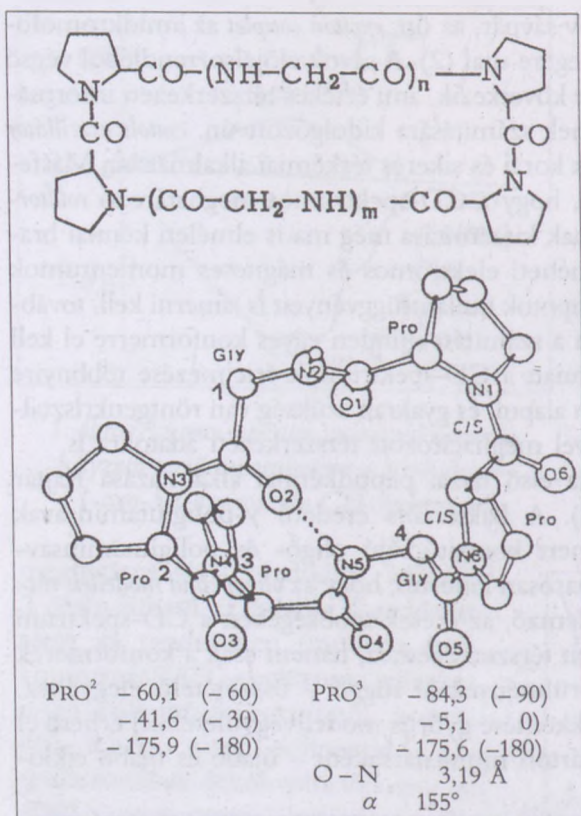
ban jelentkező negatív–pozitív sávpár, az ún. *exciton couplet* az amidkromoforok gerjesztésének csatolt jellegére utal (2). A sávok előjelsorrendjéből végső soron a hélix jobbmenetűsége következik, ami értékes térszerkezeti információ. A sávpár előjelsorrendjének számítására kidolgozott ún. *csatolt oszcillátor elmélet* az elméleti kémia egyik korai és sikeres térkémi alkalmazása. Másfelől viszont hangsúlyozni kell, hogy a CD-spektrumot meghatározó *rotátor-erősség* előjelének és nagyságának kiszámítása még ma is elméleti kémiai bravúrnak számít, hiszen az átmeneti elektromos és mágneses momentumok kiszámításához a gerjesztett állapotok hullámfüggvényeit is ismerni kell, továbbá konformerelegyek esetében a számítást minden egyes konformerre el kell végezni. A fenti nehézségek miatt a CD-spektrumok értelmezése többnyire még ma is *empirikus szabályokon* alapul, és gyakran szükség van röntgenkristallográfia vagy NMR segítségével meghatározott térszerkezeti adatokra is.

A kirotikai spektroszkópia első hazai peptidkémiai alkalmazása Kajtár Márton nevéhez fűződik (3). A bakteriális eredetű γ -poliglutaminsavak konformációvizsgálatához ismert konstitúciójú oligo- és poliglutaminsavmodellekre volt szükség. Hamarosan kiderült, hogy az *oligopeptid modellek* térszerkezetére is a *flexibilitás* jellemző, az esetek többségében a CD-spektrum nem rendelhető hozzá egyetlen térszerkezethez, hanem csak a konformerek egy adott – és a kísérleti körülményektől függő – összetételű elegyéhez. A konformációs szabadság csökkentése gyűrűs modellvegyületekkel érhető el (4), ez ösztönzött – Kajtár Márton munkatársaként – újabb és újabb ciklopeptid szintézisére.

Az 1960-as évek végén (az első ciklopeptidszintézisek idején) itthon tömegspektrometriás vizsgálatokra még nem nyílt lehetőség. A ciklopeptidkegyenye hozammal képződnek, a feldolgozás során kapott anyagkeverékből gyakran művészet volt a ciklikus termék kinyerése, a szerkezetigazolásról nem is beszélve.

Első önálló CD-spektroszkópiái kísérleteimet a heidelbergi Max Planck Intézetben végeztem, ahol a gyilkos galóca, az *Amanita phalloides* által termelt *ciklopeptidek* kutatásába kapcsolódtam be. Nem a toxinok, hanem egy ártalmatlan, sőt bizonyos védőhatással rendelkező molekula, az *antamanid* nevű ciklopeptid analógjainak szintézisével és CD-vizsgálatával foglalkoztam. A ciklopeptidek CD-spektrumának változatossága meglepő volt (5). Hamarosan kiderült, hogy a térszerkezeti viszonyok tisztázása nélkül a CD-spektrumok hozzárendelése nem több, mint fantáziálás, a spektrumszerkezet-összefüggések pedig rendszerint csak gyenge lábakon álló hipotézisek.

A Heidelbergben elkezdett szintetikus és CD-spektroszkópiái munkát az ELTE Szerves Kémiai Tanszékén folytattam. A ciklopeptidek szerkezetvizs-



3. ábra A kristályos ciklo(Pro-Pro-Gly) ($n = m = 1$) ciklohexapeptid röntgenkristallográfiai módszerrel meghatározott térszerkezete. A molekula bal oldalán egy prolinrészekből felépített β -turn látható

gálatára a Központi Kémiai Kutatóintézetben került sor Radics Lajos, Czugler Mátyás és Sasvári Kálmán közreműködésével.

A ciklohexapeptid röntgenanalízise meglepő eredményt hozott (6). A molekula egyik térfelén két prolinrészből felépített β -kanyar, β -turn szerkezeti elem található (3. ábra). A szerkezetanalitikusok körében akkoriban az a nézet uralkodott, hogy a β -kanyar két prolinrészből nem alakulhat ki. Ez irányította figyelmemet a β -kanyar szerkezetek vizsgálatára. Ezen a területen – ahogy ezt a fenti példa is mutatja – a kis tagszámú, elsősorban gyűrűs peptidok röntgenanalízise döntő szerephez jutott. De az 1970-évek közepére már a fehérjék röntgenkristallográfiája is olyan bőséges adatbázissal rendelkezett, hogy lehetővé vált a turn-szerkezetek

részletes jellemzése, továbbá csoportosítása is (7). Kanyarok főleg a fehérjé-lánc felületi régióiban fordulnak elő. Kiderült, hogy a globuláris fehérjékben – ide tartoznak az enzimek és más funkcionális szempontból jelentős fehérjék – az aminosavak mintegy 30%-a kanyarszerkezet részeként fordul elő. De ami ennél sokkal fontosabb, a kanyarokban nagy gyakorisággal megtalálható aminosavak közé tartoznak a fehérjék biológiai hatásában szerepet játszó szerin, treonin, aszparaginsav, hisztidin, aszparagin és lizin. Ezek közül az aszparagin, a szerin és a treonin azok az aminosavak, amelyek a fehérjeszintézist követően glikozileződhetnek vagy (az utóbbiak) foszforileződhetnek. Szerepe

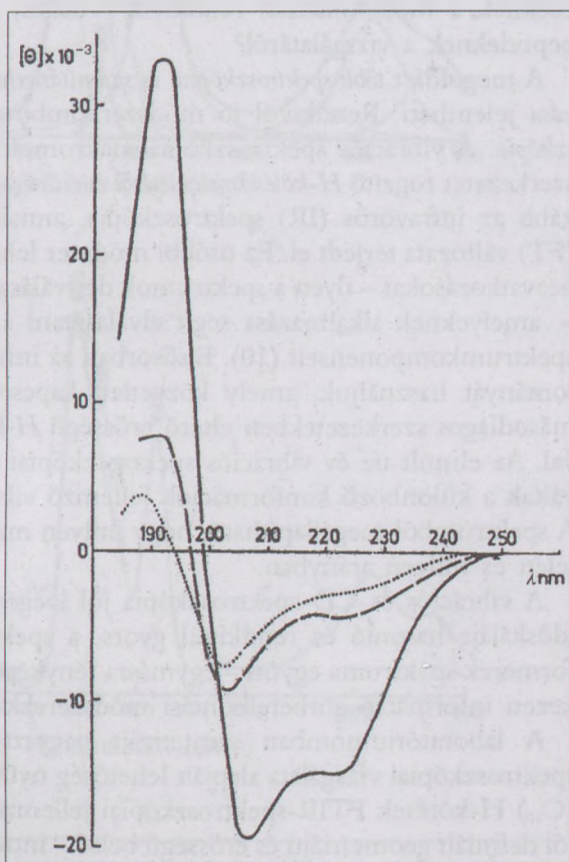
van a kanyaroknak a teljes térszerkezet kialakulásában, a fehérjelánc *hajtogatódásában*, a *foldingban* is. Némi túlzással azt mondhatjuk, hogy minden, ami a fehérjék biológiai funkciójával kapcsolatos, a kanyarok közreműködésével megy végbe.

Engem elsősorban a *kanyarok kiroptikai tulajdonságai* foglalkoztattak. A Brandeis Egyetem professzorával, Gerald D. Fasmmannel együttműködve szisztematikus vizsgálatot folytattunk a különböző kanyartípusok CD-spektroszkópiái viselkedésének felderítése céljából. Együttműködésünket az MTA, az NSF és az NIH is támogatta, lehetőséget nyújtva fiatal munkatársaimnak is hosszabb-rövidebb tanulmányutakra.

Az együttműködés keretében az ELTE Szerves Kémiai Tanszékén közel kétszáz kanyar-modellvegyületet állítottunk elő és jellemeztünk különböző spektroszkópiai módszerekkel. Egyik legfontosabb eredményünknek az I-es típusú kanyar CD-spektrumának tisztázását tartom (8).

Még ma is nagy kihívást jelent a közepes tagszámú, 5–30 aminosavból felépített peptidek, az ún. *oligo-peptidek szerkezeti biológiai jellemzése*. A CD-spektroszkópia itt lehetővé teszi a környezet – oldószer, pH, sók, tenzidok stb. – térszerkezetre gyakorolt hatásának részletes tanulmányozását.

Az első ilyen munkám a morfinhatással rendelkező, ún. *opiát peptidek* közül a β -endorfin CD-spektroszkópiái vizsgálata volt (9). A



4. ábra. A morfinszerű (opiát) hatással rendelkező β -endorfin peptidhormon (—) és fragmenseinek CD-spektruma trifluor-etanolban

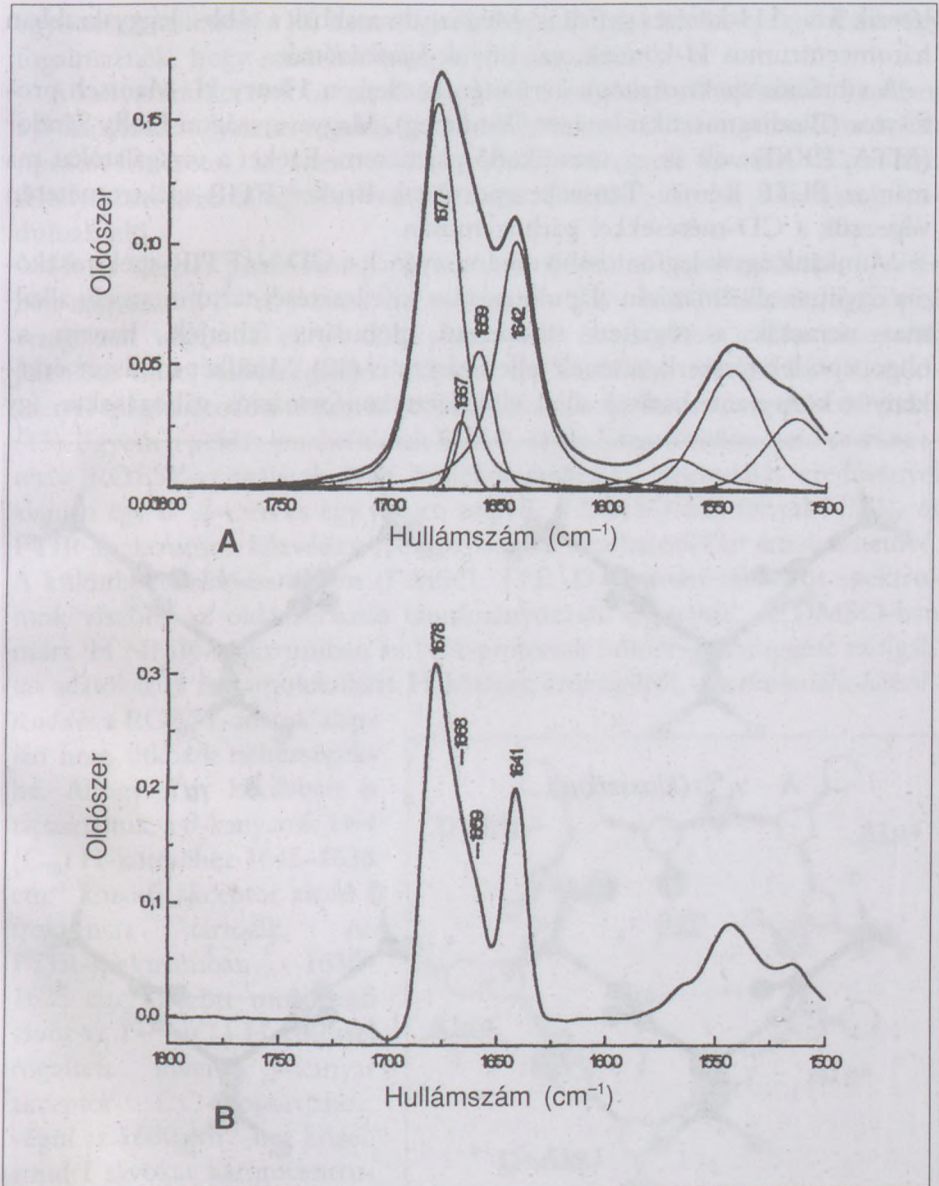
munkát Gráf László kezdeményezte, és munkatársaival együtt ő izolálta és tisztította a peptideket is. A CD-spektrum (4. ábra) világosan mutatta, hogy a β -endorfin nemcsak a rendezett szerkezet kialakulását elősegítő „mágikus” oldószerben, a trifluor-etanolban, hanem vizes oldatban is túlnyomólag α -hélix térszerkezetet vesz fel, és ez kapcsolatba hozható biológiai hatásával.

A külföldi és hazai peptidkémiai műhelyek ontották az érdekesebbnél érdekesebb oligopeptideket. Voltak köztük peptidhormonok, immunogén peptidek, enzimgátlók, idegingerület-átvivők, szignálpeptidek. Sok izgalmas, térszerkezeti alátámasztást igénylő biológiai funkció. Le kell-e mondanunk ezeknek a funkcionálisan rendkívül érdekes, nem rögzített térszerkezetű peptideknek a vizsgálatáról?

A megoldást *több spektroszkópai és számítástechnikai módszer együttes alkalmazása* jelentheti. Rendkívül jó módszerkombináció a CD- és FTIR-spektroszkópia. A vibrációs spektroszkópia makromolekulák esetében elsősorban a szerkezetet rögzítő *H-kötések jelenlétéről és erősségéről* szolgáltat adatokat. Leginkább az infravörös (IR) spektroszkópia, annak is Fourier-transzformációs (FT) változata terjedt el. Ez utóbbi módszer lehetővé tesz olyan matematikai beavatkozásokat – ilyen a spektrumok deriválása és a sáv szélesség-csökkentés –, amelyeknek alkalmazása segít elválasztani a bonyolult makromolekulák spektrumkomponenseit (10). Elsősorban az infravörös spektrum amid I tartományát használjuk, amely közvetlen kapcsolatba hozható a különböző másodlagos szerkezetekben eltérő erősségű *H-kötések* jelenlétével és típusával. Az elmúlt tíz év vibrációs spektroszkópai eredményei alapján ismertté váltak a különböző konformációk jellemző vibrációs spektrumtartományai. A spektrumból megállapítható, hogy milyen másodlagos szerkezetek vannak jelen és milyen arányban.

A vibrációs és CD-spektroszkópia jól kiegészíti egymást, a két módszer időskálája hasonló és rendkívül gyors, a spektrumban a különböző konformerek spektruma együtt – egymásra fényképezve – jelenik meg, a térszerkezeti információ görbefelbontási módszerekkel kinyerhető.

A laboratóriumomban szintetizált nagyszámú modellvegyület FTIR-spektroszkópai vizsgálata alapján lehetőség nyílt a β -kanyarokat rögzítő $1\leftarrow 4$ (C_{10}) H-kötések FTIR-spektroszkópai jellemzésére. Vizsgálataink szerint a jól definiált geometriájú és erősségű belső – intramolekuláris – C_{10} H-kötésre jellemző sáv egy viszonylag szűk spektrumtartományban, 1640 cm^{-1} táján jelentkezik az infravörös spektrumban (5. ábra) (11). Fehérjékben gyakoriak a belső H-kötésekkel stabilizált szerkezetek. Nemcsak β -kanyarokat, hanem γ -kanyarokat is ismerünk, utóbbiakban 7 tagú gyűrűs H-kötés alakul ki. Sőt,

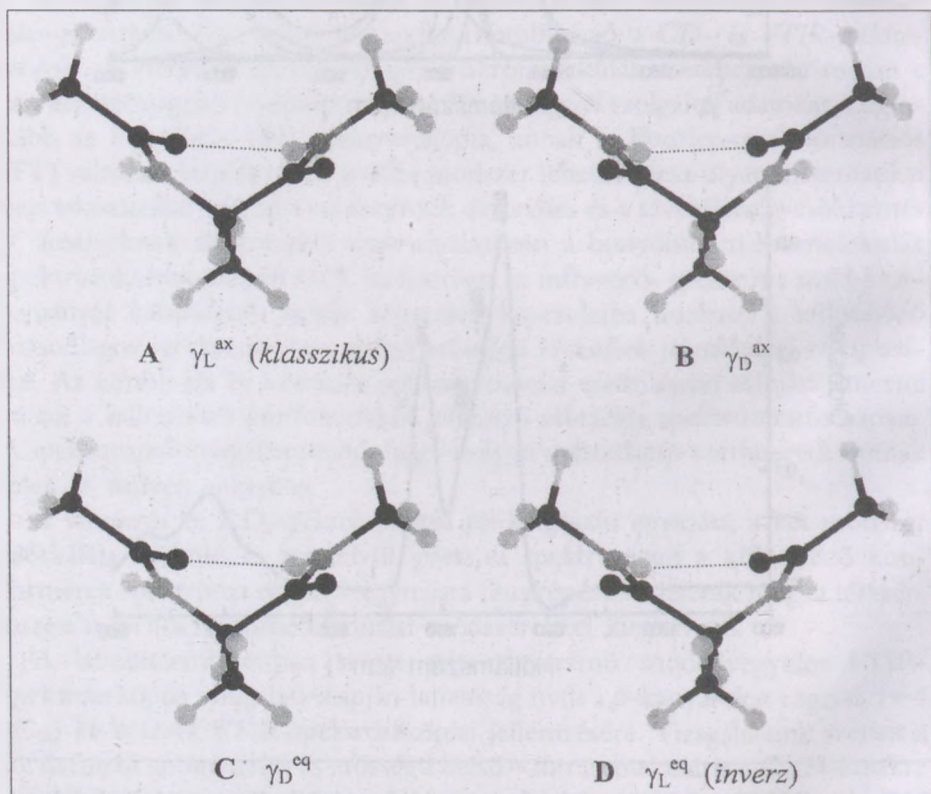


5. ábra. A ciklo(Gly-Pro-Gln-Gly- δ -Ava) ciklopeptid görbeillesztett (A) és öndeconvolúciós (FSD; B) FTIR-spektrumának amid I és amid II tartománya DMSO oldószerben. A ~ 1640 cm⁻¹ hullámszámnál jelentkező sávkomponens a β -kanyarokat rögzítő $1 \leftarrow 4$ (C₁₀) H-kötéshez tartozik, és alkalmas a β -kanyarok kimutatására

létezik 5 tagú H-kötéses gyűrű is. Még izgalmasabbak a több-, leggyakrabban háromcentrumos H-kötések, ezt hívjuk *bifurkációnak*.

A vibrációs spektroszkópia területén kezdetben Henry H. Mantsch professzor (Biodiagnosztikai Intézet, Winnipeg), Magyarországon Holly Sándor (MTA, KKKI) volt az együttműködő partnerem. Ezeket a vizsgálatokat ma már az ELTE Kémiai Tanszékcsoportjának Bruker FTIR-spektrométerén végezzük a CD-mérésekkel párhuzamosan.

Munkánk egyik legfontosabb eredményének a CD- és FTIR-spektroszkópia együttes alkalmazásán alapuló *módszer* kifejlesztését tartom, amely alkalmas nemcsak a rögzített szerkezetű globuláris fehérjék, hanem az oligopeptidek térszerkezetének jellemzésére is (12). Mindkét módszer érzékeny a környezeti hatások által előidézett konformációs változásokra, így



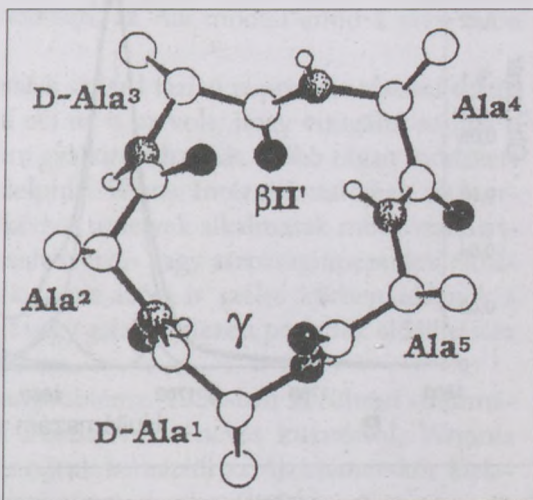
6. ábra. A γ -kanyarok (γ -turnök) lehetséges típusai. Fehérjékben az inverz (γ_L^{eq}) és kisebb gyakorisággal a klasszikus (γ_L^{ax}) γ -turn fordul elő, mindkettőt 1 \leftarrow 3 H-kötés rögzíti

együttesen különösen jól használhatók oligopeptidek biokémiai – inkább úgy fogalmaznánk, hogy szerkezeti biológiai – vizsgálatára.

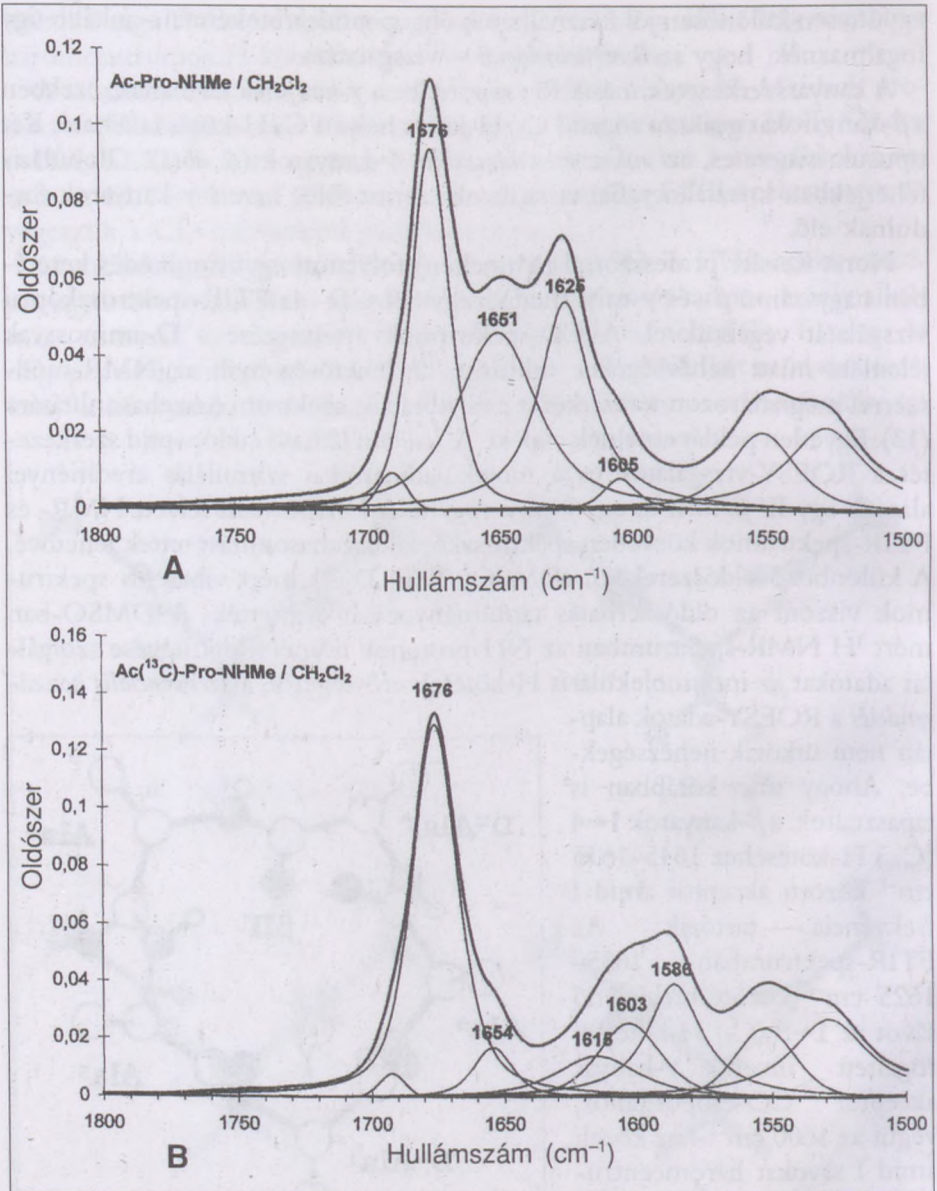
A kanyarszerkezetek másik fő csoportjába a γ -kanyarok tartoznak, ezekben a β -kanyarokat gyakran rögzítő C_{10} H-kötés helyett C_7 H-kötés található. Két típusuk ismeretes, az inverz és a klasszikus γ -kanyarok (6. ábra). Globuláris fehérjékben krisztallográfiai vizsgálatok szerint főleg inverz γ -kanyarok fordulnak elő.

Horst Kessler professzorral (München) folytatott együttműködés keretében nagyszámú β - és γ -turn modellvegyület CD- és FTIR-spektroszkópiai vizsgálatát végeztük el. A CD-spektrumok értelmezése a D-aminosavak jelenléte miatt nehézségekbe ütközött, de lehetőség nyílt az NMR-módszerrel meghatározott térszerkezet és a vibrációs spektrum összehasonlítására (13). Egyetlen példát emelnék csak ki. A 7. ábrán látható ciklopeptid szerkezetét a ROESY-vizsgálatok és a molekuladinamikai szimulálás eredményei alapján egy II' β -turn és egy γ -turn rögzíti. A DMSO-ban felvett NMR- és FTIR-spektrumok közvetlen spektroszkópiai összehasonlítást tettek lehetővé. A különböző oldószerben (DMSO, TFE, D_2O) mért vibrációs spektrumok viszont az oldószerhatás tanulmányozását segítették. A DMSO-ban mért 1H NMR-spektrumban az NH-protonok hőmérsékletfüggése szolgáltat adatokat az intramolekuláris H-kötések erősségéről, a szekvenciális hozzárendelés a ROESY-adatok alapján nem ütközik nehézségekbe. Ahogy már korábban is tapasztaltuk, a β -kanyarok $1 \leftarrow 4$ (C_{10}) H-kötéséhez $1645\text{--}1635\text{ cm}^{-1}$ közötti akceptor amid I frekvencia tartozik. Az FTIR-spektrumban $1635\text{--}1625\text{ cm}^{-1}$ között megjelenő sávot az $1 \leftarrow 3$ (C_7) H-kötéssel rögzített inverz γ -kanyar akceptor CO-csoportjához, végül az 1600 cm^{-1} -hez közeli amid I sávokat háromcentrumos (bifurkált) két donor–egy akceptor típusú H-kötésrendszerekhez rendeltük (13).

A γ -kanyarok vibrációs spektroszkópiai tulajdonságai-



7. ábra. A ciklo(D-Ala¹-Ala²-D-Ala³-Ala⁴-Ala⁵) ciklopeptid NMR-kísérleteken és molekuladinamikai számításokon nyugvó térszerkezete



8. ábra. Az Ac-Pro-NHMe γ -turn modellvegyület FTR-spektrumának amid I és amid II tartománya CH₂Cl₂ oldószékben. Az 1625 cm⁻¹-nél jelentkező sávkomponens az 1←3 (C₇) H-kötéshez tartozik. Az acetyl csoportban ¹³C izotóppal jelölt modellvegyület egyértelmű spektrális hozzárendelést tesz lehetővé

nak végleges tisztázása céljából szintetizáltunk olyan lineáris modellvegyületeket is, amelyek csak C₇ H-kötés kialakítására képesek. Ezek a modellek az N-acetil-aminosav-N¹-metilamidok (Ac-Xxx-NHCH₃) voltak. Előállítottunk az egyik vagy másik karbonilcsoportban ¹³C izotóppal jelölt modellvegyületeket is, ezek a közel 40 cm⁻¹-es izotópeltolódás miatt egyértelmű sáv-amid hozzárendelést tesznek lehetővé (8. ábra). A négy különböző oldószerben felvett spektrumok alátámasztották korábbi, γ-kanyarokkal kapcsolatos eredményeinket. Egyrészt nyilvánvalóvá vált, hogy a ~1625 cm⁻¹ értéknél megjelenő amid I sáv a C₇ H-kötést létesítő CH₃-CO-NH- molekularészlethez, a ~1600 cm⁻¹-nél jelentkező pedig az oldószer (TFE vagy víz) részvételével kialakuló bifurkált acetamidocsoporthoz rendelhető.

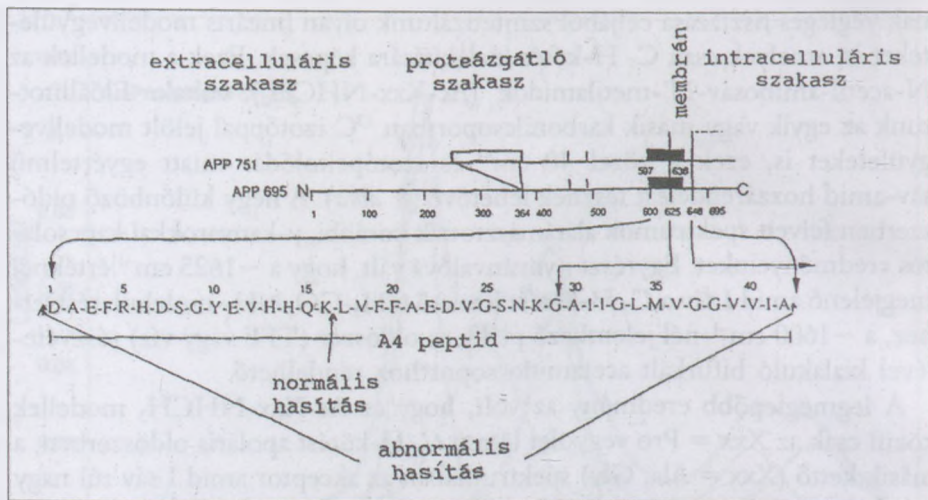
A legmeglepőbb eredmény az volt, hogy az Ac-Xxx-NHCH₃ modellek közül csak az Xxx = Pro vegyület létesít C₇ H-kötést apoláris oldószerben, a másik kettő (Xxx = Ala, Gly) spektrumában az akceptor amid I sáv túl nagy (>1660 cm⁻¹) frekvenciaértéknél található. Az egyetlen lehetőség a C₅ H-kötés kialakulása, amely meglehetősen gyenge, így az akceptor -CO-NHCH₃ karbonil nagy frekvenciánál nyel el, és a sáv átfed a másik amidcsoport amid I sávjával. A C₅ H-kötéses konformer dipólusmomentum-kompenzált, a solvatáció sem játszik szerepet a stabilizálásában.

A C₇ H-kötés hiányát alátámasztja a Holly Sándor (MTA KKKI) által felvett GC/IR-spektrum is, amely lényegesen különbözik egymástól az Xxx = Pro és Ala modellek esetében, az Ala modell amid I sávja nem hasad fel.

Sikeresen dolgoztunk a *glikopeptidek* szilárd fázisú peptidszintézissel történő előállítása területén is. A végső cél itt is az volt, hogy vizsgálni tudjuk a glikozilezésnek a turn-szerkezetekre gyakorolt hatását. Több olyan módszert is sikerült kifejlesztenünk a philadelphiai Wistar Intézet kutatóival, elsősorban ifj. Ötvös Lászlóval együttműködve, amelyek alkalmasak monoszacharidokkal vagy diszacharidokkal kapcsolt szerin- vagy aszparaginpeptidek előállítására. Csak egy példát említenék, amit azóta is széles körben idéznek a szakirodalomban, ez a glükozilezett vagy galaktozilezett peptidek előállítására alkalmas *oxazolin-módszer* (14).

Végül egy igazi *szerkezeti biológiai* probléma. 1986-ban kerültem tudományos kapcsolatba a University of Pennsylvania neves kutatóival, Virginia Lee-vel és John Trojanowskival, és rajtuk keresztül az Alzheimer-kór kialakulásában szerepet játszó fehérjeaggregátumok vizsgálatával.

Az Alzheimer-kór tudományos szempontból is jelentős idegrendszeri betegség. A betegségben elhunytak agyában hisztokémiai módszerekkel könnyen kimutatható elváltozások – fonadékok és plakkok – találhatók.



9. ábra. A β -amiloid [A4(1-42)] peptid képződési mechanizmusa és szekvenciája

Egyre inkább elfogadottá válik az a nézet, hogy az Alzheimer-kór kialakulásáért végső soron egy 40–43 aminosavból felépített peptid – vagy fehérje –, a β -amiloid felelős. Ez egy 700-nál is nagyobb tagszámú prekursor transzmembrán fehérje, az APP hibás enzimatis hasadásának terméke (9. ábra). A β -amiloid aggregációra képes. Az aggregátumok az idegsejtek közötti ún. extracelluláris térben keletkeznek, és mennyiségük növekedésétől függő mértékben a neuronok elhalását idézik elő. Az amiloid önmagában nem toxikus, hiszen kis mennyiségben jelen van az egészséges emberek vérében és cerebrospinális folyadékában is, egyes feltételezések szerint egyfajta szabályozó szerepe van. Az aggregáció olyan, mint a kristályosodás, a leglassúbb lépése a csíráképződés, amely termodinamikailag kedvezőtlen folyamat. A csíra vagy góc lehet valamilyen idegen anyag is, de gyakori, hogy az amiloid leg-hosszabb, β -redőzött réteg kialakulására különösen hajlamos 43-as formája végzi el a „beoltást”. Tartósan megnövekedett amiloidkoncentráció esetén a β -láncokból és β -rétegekből a háromdimenziós aggregátumok kialakulása már nagy sebességgel megy végbe.

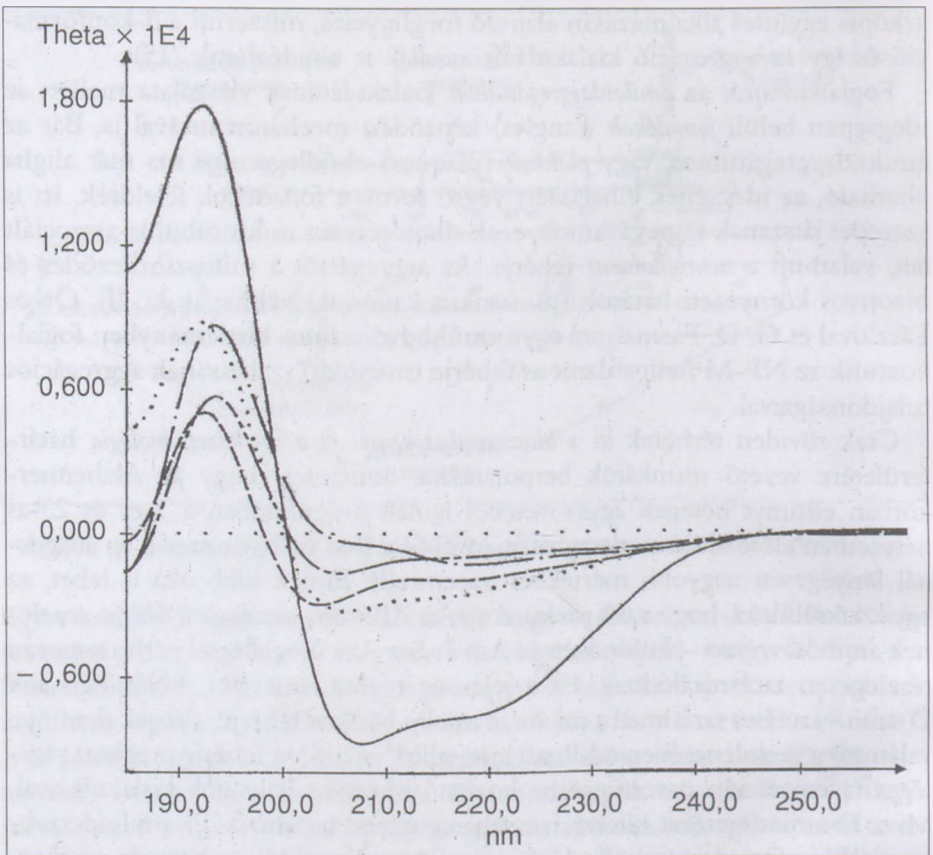
Mi tíz évvel ezelőtt vizsgálni kezdtük az amiloid aggregációs tulajdonságait, megpróbáltuk a szekvencián belül a β -redőződésre különösen hajlamos szakaszt kiválasztani. Már az első CD-spektroszkópiai vizsgálatok is érdekes eredményt hoztak. Kiderült, hogy a 11–25-ös peptid vizes oldatban szinte kizárólagosan β -szerkezetet vesz fel, tehát a β -amiloid középső része is szerepelhet aggregációs gócként. Még érdekesebb volt az a CD- és FTIR-spektro-

szkópia együttes alkalmazásán alapuló megfigyelés, miszerint a β -konformáció és így az aggregáció kialakulását *micellák* is előidézhetik (15).

Foglalkoztunk az *amiloidaggregátumok* kialakulásának vizsgálata mellett az idegsejten belüli *fonadékok* (tangles) képződési mechanizmusával is. Bár az amiloidaggregátumok vagy *plakkok* (plaques) elsődlegessége ma már aligha vitatható, az idegsejtek elhalásáért végső soron a fonadékok felelősek. Itt is szerepet játszanak aggregátumok, ezek alkotórészei a mikrotubulus-asszociált *tau*, valamint a *neurofilamens* fehérje. Az aggregációt a túlfoszforileződés és bizonyos környezeti hatások (pl. toxikus kationok) válthatják ki. Ifj. Ötvös Lászlóval és G. D. Fasmannel együttműködve számos közleményben foglalkoztunk az NF-M neurofilamens fehérje ismétlődő szakaszának aggregációs tulajdonságaival.

Csak röviden térhetek ki a *bioszervetlen kémia és a szerkezeti biológia* határterületére vezető munkáink bemutatására. Ismeretes, hogy az Alzheimer-kórban elhunyt betegek agyszövetéből izolált β -amiloidban a 7-es és 23-as helyzetben előforduló aszparaginsav, továbbá a 8-as és 26-os szerin az átlagosnál lényegesen nagyobb mértékben racemizált. Ennek több oka is lehet, az egyik közülük az, hogy a β A prekursorja, az APP ún. *hosszú életű fehérje*, amelynek aminosavrészei – különösen az Asp és Ser – az öregedéssel párhuzamosan részlegesen racemizálódnak. Ez a jelenség régóta ismeretes, különösen sok D-aminosavrést tartalmaz a mielin, a mielin bázikus fehérje, a fogak dentinjé, valamint a szemlencsében található krisztallin, ez utóbbi fehérje öregkori részleges racemizációja összefüggésbe hozható bizonyos hályogok kialakulásával. Mi a D-aminosavrést, illetve izoaszparaginsavat tartalmazó β -amiloid szekvenciák konformációs viselkedését vizsgáltuk a korábbihoz hasonló módon. Szilárd fázisú peptidszintézissel elkészítettük az N-terminális és láncközi szekvenciákat, és felvettük a CD- és FTIR-spektrumukat különböző oldószerekben.

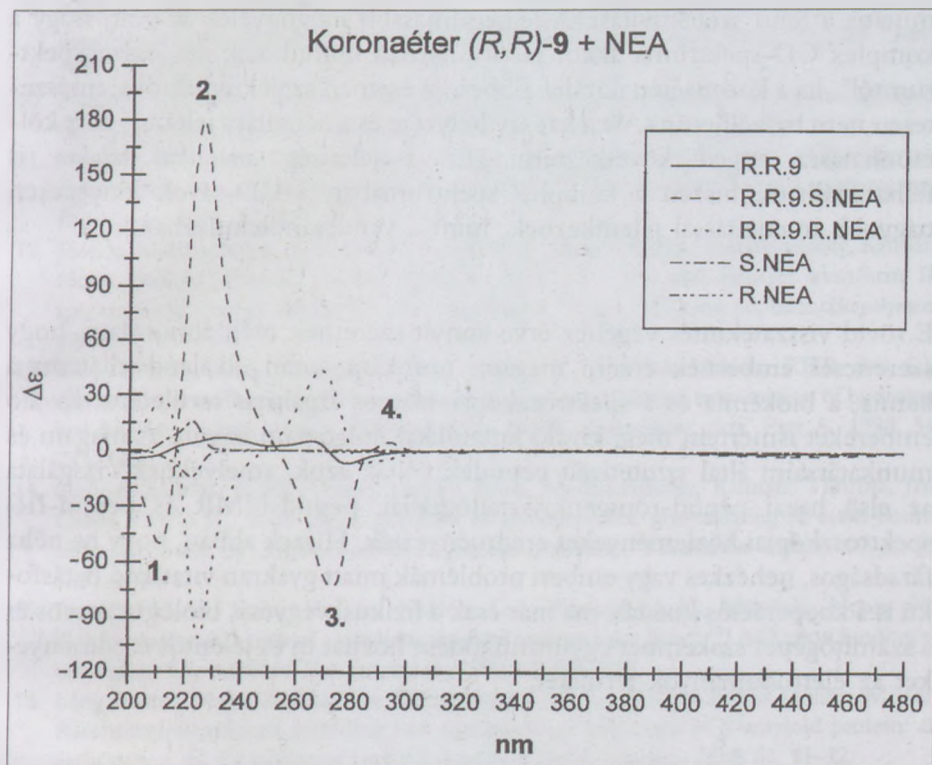
A CD-spektrum szerint az N-terminális fragmens α -helicitása D-Asp, D-Ser vagy iAsp jelenlétében jelentősen lecsökken még a hélix kialakulását elősegítő oldószerben, a TFE-ben is (10. ábra, vö. a 2. ábrával). A CD-görbék alakja, illetve az FTIR-spektrumok felbontásával nyerhető adatok a β -redőzött és a rendezetlen, valamint turn-konformáció arányának növekedését mutatták (16). Ez végső soron azt jelenti, hogy a vizsgált aminosavak racemizációja megnöveli a β A aggregációs hajlamát, létrejönnek olyan góccok, amelyek jelentős mértékben gyorsítják a plakkok képződését. Ez az eredmény magyarázatul szolgálhat az *öregkori Alzheimer-kór* kialakulására: ha a plakkok az adattárolásért – vagyis emlékezetünkért – felelős agyrégiókat (elsősorban a hippocampuszt) károsítják, akkor kialakul a betegség.



10. ábra. A β -amiloid 2-11 fragmens (A1; vö. a 9. ábrával), valamint D-aminosavakkal, illetve izoaszparaginsavval (iAsp) helyettesített származékainak CD-spektruma TFE-ben. A1 (—), (D -Asp⁷)A1 (...), iAsp⁷ (---), (D -Asp⁷, D -Ser⁸)A1 (— · — · —), (iAsp⁷, D -Ser⁸) A1 (— · — · —)

A CD- és FTIR-spektrumokból az is kiolvasható, hogy az aggregációs hajlam – különösen Ca^{2+} - és Al^{3+} -ionok jelenlétében – tovább nő. Ez a megfigyelés alátámasztja azt a véleményt, miszerint bizonyos kationok tartósan megemelkedett koncentrációja az agyban kockázati tényező lehet a fiatalkori Alzheimer-kór vagy más idegrendszeri megbetegedések kialakulásában.

Az elmúlt években munkáim egyre nagyobb hányada alkalmazott spektroszkópiai jellegű volt. Itt már „hozott anyagból” dolgoztunk, és a CD-vizsgálatok célja a vizsgált molekulák kiroptikai és térszerkezeti jellemzése volt. Kooperációs munkáink eredményeiből számos (több mint harminc) közle-



11. ábra. A (3*R*, 13*R*)-dimetil-fenazino-18-korona-6 koronaéter (9), az 1-(α -naftil)-etil-ammónium-perklorát (NEA) enantiomerek, valamint a diasztereoizomer komplexek CD-spektruma acetonitrilben (l. az ábra melletti görbe-hozzárendeléseket)

mény született. Egyetlen, inkább érdekességnek szánt példát szeretnék csak kiragadni ezek közül.

Huszthy Péter mintegy tíz éve foglalkozik piridin-alapú királis koronaéterek és királis aril-ammónium-sók kölcsönhatásának vizsgálatával. A kirotikai spektroszkópia alkalmas módszernek bizonyult az enantiomerszelektivitás kvalitatív és félkvantitatív jellemzésére (17). A királis piridino-18-korona-6-diészter az α -naftil-etil-ammónium perkloráttal szemben heterokirális szelektivitást mutat, vagyis az (S,S)-(R) 1:1 komplex képződése a kedvezményezett. A komplexet H-kötések és π - π kölcsönhatás stabilizálják. A szelektivitás kérdése annak alapján dönthető el, hogy mennyiben tér el az 1:1 komplex CD-spektruma a komponensek spektrumának összegétől. A 11. ábra jól

mutatja a fenti szelektivitást. A legizgalmasabb megfigyelés az volt, hogy a komplex CD-spektruma akkor is látványosan különbözik az „összegspektrumtól”, ha a koronaéter akirális. Ebben az esetben szelektivitásról természetesen nem beszélhetünk, de a két sáv helyzete és intenzitása jelentős π - π kölcsönhatásra enged következtetni. Ez a jelenség *analitikai célokra* is felhasználható, hiszen a komplex spektrumában a CD-sávok lényegesen nagyobb intenzitással jelentkeznek, mint a vendégmolekuláiban.

*

E rövid visszatekintés végéhez érve annyit szeretnék még elmondani, hogy szerencsés embernek érzem magam, munkám során elkalandozhattam a kémia, a biokémia és a spektroszkópia számos izgalmas területére. Kiváló embereket ismertem meg, kiváló kutatókkal dolgoztam együtt. A magam és munkatársaim által szintetizált peptidok voltak azok, amelyeknek vizsgálata az első hazai peptid-röntgenkristallográfiai, peptid-NMR és peptid-IR-spektroszkópiai közleményeket eredményezett. Hiszek abban, hogy ha néha fáradtságos, nehézkes vagy emberi problémák miatt gyakran vitatható hatásfokú is a kooperációs kutatás, ma már csak a fizikus, vegyész, biológus, orvos és a számítógépes szakember együttműködése hozhat új és jelentős eredményeket az élettudományok területén.

Irodalom

1. Velluz, Leon, Legrand, Maurice, Grosjean, Marc: *Optical Circular Dichroism*. Weinheim, 1965, Verlag Chemie GmbH, 95.
2. Yang, Jen T., Wu, Chuen-Shang C., Martinez, Hugo M.: Calculation of Protein Conformation from Circular Dichroism. *Methods in Enzymology*, 1986, 130, 208–269.
3. Kajtár, Márton, Bruckner, Győző: The Optical Rotatory Dispersion of γ -linked Oligo- and Polypeptides of Glutamic Acid. *Tetrahedron Letters*, 1966, 40, 4813–4818.
4. Kajtár, Márton, Hollósi, Miklós, Snatzke, Günther: Circular dichroism of cyclo- γ -oligo-glutamic acids. *Tetrahedron*, 1971, 27, 5659–5671.
5. Hollósi, Miklós, Wieland, Theodor: Ion binding properties in acetonitrile of cyclopeptides built up from proline and glycine residues. *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1977, 10, 329–341.
6. Czugler, Mátyás, Sasvári, Kálmán, Hollósi, Miklós: Crystal structure of cyclo (Gly-L-Pro-L-Pro-Gly-L-Pro-L-Pro) trihydrate. Unusual conformational characteristics of a cyclic hexapeptide. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1982, 104, 4465–4469.
7. Chou, Peter, Fasman, Gerald D.: β -Turns in proteins. *J. Mol. Biol.*, 1977, 115, 135–175.
8. Hollósi, Miklós, Kövér, Katalin E., Holly, Sándor, Radics, Lajos, Fasman, Gerald D.: β -Turns in bridged proline-containing cyclic peptide models. *Biopolymers*, 1987, 26, 1555–1527.

9. Hollósi, Miklós, Kajtár, Márton, Gráf, László: Conformation of β -endorphin and its constituent fragments in water and trifluoroethanol by CD spectroscopy. *FEEBS Letters*, 1977, 74, 185–186.
10. Mantsch, Henry H., Moffatt, Douglas J., Casal, Hector C.: Fourier Transform Methods for Spectral Resolution Enhancement. *J. Mol. Structure*, 1988, 173, 285–298.
11. Mantsch, Henry H., Perczel, András, Hollósi, Miklós, Fasman, Gerald D.: Characterization of β -turns in cyclic hexapeptides in solution by Fourier transform IR spectroscopy. *Biopolymers*, 1993, 33, 201–207.
12. Hollós, Miklós, Majer, Zsuzsa, Rónai, András Z., Magyar, Anna, Medzihradzky, Kálmán, Holly, Sándor, Perczel, András, Fasman, Gerald D.: CD and Fourier transform IR spectroscopic studies of peptides. II. Detection of β -turns in linear peptides. *Biopolymers*, 1994, 34, 177–185.
13. Vass, Elemér, Kurz, Michael, Konat, Robert K., Hollósi, Miklós: FTIR and CD spectroscopic studies on cycle penta- and hexapeptides. Detailed examination of hydrogen bonding in β - and γ -turns determined by NMR. *Spectrochim. Acta*, Part A, 1998, 54, 773–786.
14. Hollósi, Miklós, Kollát, Emma, Laczkó, Ilona, Medzihradzky, Kálmán, Thurina, Jan, Ötvös, László Jr.: Solid-phase synthesis of glycopeptides: glycosylating of resin-bound serine-peptides by 3,4,6-tri-acetyl-D-glucose-oxazoline. *Tetrahedron Letters*, 1991, 32, 1531–1534.
15. Laczkó-Hollósi, Ilona, Hollósi, Miklós, Lee, Virginia M.-Y., Mantsch, Henry H.: Conformational change of a synthetic amyloid analogue des [Ala^{21,30}] A42 upon binding to octyl glucoside micelles. *Eur. Biophys. J.*, 1992, 21, 345–348.
16. Láng, Emma, Majer, Zsuzsa, Vass, Elemér, Szabó, Sándor, Hallgas, Balázs, Hollósi, Miklós: Racemization-induced defolding and aggregation of fragments of β -amyloid protein: an early step in the formation of amyloid plaques. *Clinical Neurosci.*, 1998, 51, 11–12.
17. Somogyi, László, Huszthy, Péter, Köntös, Zoltán, Hollósi, Miklós: CD-monitored Enantiomeric Discrimination of Organic Ammonium Salts by Chiral Pyridino Macrocycles. *Enantiomer*, 1998, 3, 439–451.

SZÉKFOGLALÓK

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIAÁN 1995–1998 I–II. KÖTET

- Bartók Mihály: Térkémiiai tényezők szerepe a fémkatalízisben
- Bárdossy György: A radioaktív hulladék hazai elhelyezésének földtudományi alapjai
- Farkas Tibor: Membránfoszfolipidek molekuláris összetétele és a testhőmérséklet
- Ferge Zsuzsa: A civilizációs folyamat fenyegetettsége
- Freund Tamás: Agykérgi neuronhálózatok szerkezete és működése
- Görög Sándor: A gyógyszeranalitika szépségei
- Hanák Péter: Modernizáció és antikapitalizmus Magyarországon
- Horváth József: Növényvírusok *in vivo*
- Ihász Mihály: A pepticus fekélyek korszerű sebészi kezelése
- Kakosy László: Théba a Ptolemaiosz- és a római korban
- Kálmán Alajos: Barangolások kristályrácsokban
- Kulcsár Szabó Ernő: Költészet és dialógus
- Kúnos György: Opio-melanokortin peptidek szerepe a vérkeringés agyi szabályozásában
- Lipták András: Fehérje-szénhidrát kölcsönhatások
- Makkai Mihály: A kategóriaelmélet szerepe a matematika megalapozásában
- Marosi Sándor: A földrajzi táj kutatások összetettsége és alkalmazhatósága
- Meskó Attila: Környezettudomány, környezeti geofizika
- Méhes Károly: Régi és új módszerek az orvosi genetikában
- Palánkai Tibor: Az integráció mérésének néhány elméleti-stratégiai kérdése
- Pálinkás Gábor: Molekuláris oldatkémia
- Palkovits Miklós: Agypályák – idegi hálózatok
- Reményi Károly: Paradoxonok a tüzeléstechnikában
- Rézler Gyula: Az arbitráció szociológiája
- Róna-Tas András: Honfoglalás és népalakulás a középkori Euráziában
- Sajó András: A jogosultságok lehetősége
- Sárközy András: Hibrid problémák a számelméletben
- Solymos Rezső: Az erdészeti, fatermesési és erdőnevelési kutatások eredményei és alkalmazásuk az erdőgazdasági gyakorlatban (1958–1998)
- Somfai László: Kottakép és műalkotás
- Szabadváry Ferenc: Magyar tudománytörténeti tabló, előtérben a kémia
- Szakály Ferenc: Török kori történelmünk kritikus kérdései
- Teplán István: Antitumor aktivitású peptidek
- Terplán Zénó: A gépszervezettről
- Tőke László: Szupramolekuláris kémia; koronaéterek
- Venetianer Pál: A génebesz műszerei: a restriktációs-modifikációs enzimek
- Vékás Lajos: A szerződési szabadság alkotmányos korlátai
- Vicsek Tamás: A természet geometriája
- Zimányi József: A maganyagtól a kvarkanyagig a nehézion-fizikában

SZÉKFOGLALÓK 1995–1998, III–V. kötet

- Árkai Péter: A regionalis metamorfózis és jelentősége a Kárpát-medence kéregfejlődésében
- Bauer Győző: Az oxidatív stressz és az antioxidánsok hatása a simaizomszövetekre
- Bérces Tibor: A gyökreakciók sokszínű világa: a reakciók kinetikája és termokémiája
- Brassai Zoltán: Légtagkeringési zavarok új kezelési lehetőségei
- Csányi Vilmos: Viselkedés, környezet, genek – etológiai tanulmányok
- Dohy János: Biotechnológia és állatnevelés – új eredmények, kihívások, kilátások
- Fonyó Zsolt: Integrált vegyipari rendszerek folyamatszintézise
- Friedrich Péter: Fehérjék, enzimek, emlékezet
- Gáspár Zsolt: A számítógépek hatása a tartószerkezetek mechanikájára
- Géczy Barnabás: Kontinuitás, krízis, katasztrófa az ammoniteszek törzsefejlődésében
- Grätzer György: Kélelméleti függetlenségi tételek
- Harmathy Attila: A magyar polgári jogról 1999-ben
- Haszpra Ottó: Néhány hidraulikai probléma a vízellátásban
- Katvani László: Differenciálegyenletek megoldásainak stabilitási tulajdonságai
- Keszky László: Morfogenezis haploid és szomatikus sejtekből in vitro
- Hollósi Miklós: Kiroptikai spektroszkópia: változatok egy témára
- Konti László: Az uráli/finnugor „ösnyelv”-ről
- Horváth János: Disztribúciók és topológikus vektorterek
- Kiss Lajos: Az új európai vízellátás kutatás
- Kosa László: A magyar néprajz 1945 után
- Kristó Gyula: Előd
- Lámfalussy Sándor: Szerkezeti változások az európai pénzpiacban
- Lőrincz Lajos: Összehasonlítás a közigazgatás kutatásában
- Major György: Napsugárzás a légkörben és a felszínen
- Nagy Béla: A háziállatok enterális colibacillosisai
- Nagy Elemér: A klasszikus fizikától az anyagtudományig
- Nagy István: Változó struktúrájú nemlineáris rendszerek
- Nagy-Tóth Ferenc: Fényhatásvizsgálat egysejtű zöldmoszatokon
- Náray Szabó Gábor: Elektrosztatikus katalízis
- Nemeth Judit: A nehézion fizika és asztrofizikai alkalmazásai
- Orbán Miklós: Kémiai periódicitás időben és térben
- Pápay József: Föld alatti gáztárolás porózus kőzetekben
- Papp László: A legyek ritkaságáról
- Péter Mihály: Néhány gomba- és baktériumfaj viselkedése a létfeltételek alsó határán
- Petrányi Győző: A szuppresszív immunreguláció alkalmazása a transzplantáció és a reprodukció immunológia klinikai gyakorlatában
- Pleh Csaba: A relativizmus kérdései és a mai pszicholingvisztika
- Salamon Miklós: Kőzetmechanika fejlődése – egyéni szemzöngből
- Sitkei György: A talaj-kerek kapcsolat néhány elméleti kérdése
- Spát András: A kalcium jel és a mitokondrium működése
- Szabad György: A parlamentáris kormányzati rendszer megteremtése, védelmezése és kockázata Magyarországon (1848–1867)
- Szabó András: Alkotmány és büntetőjog
- Szabó Miklós: Tumultus Gallicus
- Szegedy-Maszácz Mihály: A Nyugat és a világirodalom
- Szentes Tamás: Fejlődés, rendszerváltás és versenyképesség a globalizálódás korában
- Tóth Klára: Szelektív érzékelők jelentősége a kémiai analízisben
- Uray Zoltán: Sugársérülések mérése kémiai és biológiai anyagokkal
- Várallyay György: Talajfolyamatok szabályozásának tudományos megalapozása
- Varga János: Földeskü
- Vaskovics László: Társadalmi modernizáció és a szülői szerepváltozás összefüggései
- Vétes Attila: Fullerénvegyületek Mössbauer-spektroszkópiája
- Vizkelety András: A Leuveni Kódex magyar scriptorai
- Zalai Ernő: Neumann János: klasszikus vagy neoklasszikus?