

EGY TUDOMÁNYOS HUNGARIKUM: A FLUKTUÁCIÓS FIT 90 ÉVE SZÜLETETT SZABOLCSI GERTRUD BIOKÉMIKUS AKADÉMIKUS

Orosz Ferenc

az MTA doktora,
MTA TTK Enzimológiai Intézet
orosz.ferenc@ttk.mta.hu

Vértessy Beáta

az MTA doktora,
MTA TTK Enzimológiai Intézet
vertessy.beata@ttk.mta.hu

Bevezetés

Néhány éve jelent meg egy érdekesítő cikk *Scientific Couples in Hungary* címmel (Vámos, 2010), amely többek között Szabolcsi Gertrud (1923. január 26.–1993. március 28.) és Straub F. Brunó (1914. január 5.–1996. február 15.) közös pályáját is tárgyalja. Bár mindketten Nagyváradon születtek, a magyar biokémia két jeles képviselőjének útja csak jóval később, az MTA Biokémiai Intézetében (utóbb MTA SzBK Enzimológiai Intézet) találkozott össze, amelynek Szabolcsi alapító tagja, és 1954–72 között igazgatóhelyettese, míg Straub 1960-tól 1986-ig igazgatója volt. 1972-ben össze is házasodtak. (Mindkettőjüknek második házassága volt.) Az idézett cikk szerint „soha nem publikáltak közös tudományos munkát”. Valóban, ha az orvosi és biológiai cikkeket tartalmazó *PubMed*-ben keressük, akkor nem találunk általuk írt közös cikket; ám ha a *Web of Science* citációs adatbázisában kutatunk, már akad egy: „Straub, F. B.; Sza-

bolcsi, G, 1964, *Molecular Biology: Problems and Perspectives*; Publisher: Nauka, Moscow; Title: Remarks on the dynamic aspects of enzyme structure” (Straub – Szabolcsi, 1964). E közös munka születése és utóélete jelen cikkünk tárgya, amellyel egyben a kilencven éve született Szabolcsi Gertrud¹ emléke előtt is tisztelgünk. (A téma szorosan vett szakmai vonatkozásait máshol tárgyaltuk [Vértessy – Orosz, 2011].)

A tudományos probléma

A molekuláris felismerés (*molecular recognition*) olyan központi jelentőségű mechanizmus, amely az életfolyamatok mindegyikében tetten érhető. Kvantitatív leírására több

¹ Szabolcsi Gertrud 1950-ben az MTA Biokémiai Intézetének alapító tagja, 1954–72 között igazgatóhelyettese, 1957-ben a biológiai tudomány kandidátusa, 1964-ben doktora, 1967-ben az MTA levelező, 1973-ban rendes tagja. A Magyar Biokémiai Egyesület első elnöke (1981–86), az *Acta Biochimica et Biophysica Academiae Scientiarum Hungaricae* szerkesztő bizottságának mindvégig tagja (1967–90).

megközelítést is kidolgoztak. A „kulcs–zár” modellt, amely az enzim katalízis során történő kötési lépéseket írja le, még jóval a biomolekulák háromdimenziós térszerkezetének leírása előtt javasolták (Fischer, 1894). Később, a kötési események során gyaníthatóan bekövetkező makromolekuláris konformációváltozások alapján fogalmazták meg az „indukált fit” (*induced fit*) (Koshland, 1958) és a „fluktuációs fit” (*fluctuation fit*) (Straub – Szabolcsi, 1964) modelleket (1. ábra). Mindkét koncepció alapja az az elképzelés, hogy a makromolekulák különböző konformációkban léteznek, s ezek előfordulási valószínűsége ligandumok (például egy enzim szubsztrátja) jelenlétében és távollétében eltérő. A ligandum molekula fehérjéhez (vagy egyéb makromolekulához) való kötődését gyakran kísérik a makromolekula konformációs változásai. A központi kérdés úgy tehető fel, hogy vajon *a ligandum indukálja-e a konformációs változást, vagy pedig egyszerűen válogat (szelektál) a már „a priori” jelenlévő, egymással egyensúlyban lévő konformációk közül, és azután egyikhez hozzákötődve, azt stabilizálja.* Az első lehetőség a széles körben alkalmazott indukált fit modell (Koshland, 1958), amely a molekuláris felismerés elmúlt hat évtizedének kutatásaira jelentős hatást gyakorolt; a második lehetőséget a fluktuációs fit (Straub – Szabolcsi, 1964) koncepció írja le.

Indukált fit

Az indukált fit elmélet szerint a ligandum kötődése specifikus konformációs változást



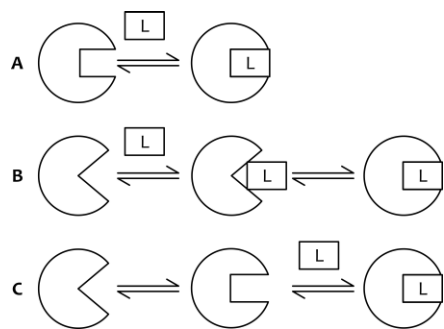
Szabolcsi Gertrud (1923–1993)

idéz elő a fehérjében (1. ábra). A modell korai leírásaiban az enzim–szubsztrát kölcsönhatás volt előtérben. Daniel Koshland (1958) hangsúlyozta, hogy az indukált fit koncepció éles ellentétben áll a korábban javasolt kulcs–zár modellel (Fischer, 1894), mivel ez utóbbi abból indult ki, hogy az enzimfehérje szerkezete („zár”) merev negatív lenyomatként fogadja be a szubsztrátot („kulcs”). Az indukált fit ezzel szemben azt jósolja, hogy a szubsztrát szignifikánsan érzékelhető változást okoz az enzim aktív centrumának háromdimenziós szerkezetében. Így a szubsztrát beilleszkedése az enzim aktív centrumába csak

azután történik meg, hogy a szerkezeti változások létrejöttek. Az elméletet később általánosították, és ma már nemcsak az enzim–szubsztrát, hanem bármilyen egyéb receptor–ligandum kölcsönhatásra alkalmazzák.

Fluktuációs fit

A fluktuációs fit elméletet először 1964-ben írták le. Az elképzelés Straub F. Brunó és munkatársa, Szabolcsi Gertrud nevéhez fűződik. Saját laboratóriumaikban az RNáz és a glicerin aldehid-3-foszfát dehidrogenáz enzimeken végzett, a szulfhidril reaktivitást vizsgáló kísérleteik (Straub, 1967) a fehérjék flexibilis természetére utaltak, s ez alapján fogalmazták meg azt a koncepciót, hogy a fehérjék valójában több konformáció egyensúlyi elejeként foghatók fel. Érdekes szó szerint idézni Straubtól két mondatot, amelyekből az elgondolás lényege világosan kitűnik. „I have pointed out that a fluctuating model for



1. ábra • A fehérje – ligandum kötődés modelljei. A: „kulcs a zárban”, B: indukált fit, C: fluktuációs fit (L, ligandum).

*an enzyme could be a good basis for the conformational changes occurring when enzyme binds its substrate or its product. Instead of a fit induced by the substrate, I would suggest a fluctuating enzyme molecule, one particular form of which is able to bind the substrate and other forms another ligand*² (Straub, 1967).

Miért nem terjedt el a fluktuációs fit?

A jelen cikk szerzői már pályájuk kezdetén megismerkedtek mind a fluktuációs fit, mind az indukált fit koncepciójával az Enzimológiai Intézetben, amely akkoriban Straub F. Brunó igazgatása alatt működött. Tankönyvi szintű axiómaként tekintettünk mindkettőre, olyanmódon, hogy egy akkoriban készült közös munkánkban hivatkozás nélkül tárgyaltuk őket. Azonban a témát kicsit is ismerők számára köztudott, és a citációs adatbázisokat

² „Rámutattam, hogy egy fluktuációs enzimmodell jó alapja lehet azoknak a konformációs változásoknak, amelyek akkor történnek, amikor az enzim megköti a szubsztrátját vagy termékét. Ahelyett, hogy a szubsztrát indukálná az illeszkedést („fit”-et), egy fluktuáló enzim molekulát javasolnék, amelynek egy adott formája képes megkötni a szubsztrátot és más formák más ligandumokat.”

megvizsgálva is nyilvánvaló, hogy a két elmélet közel sem futott be hasonló karriert. Mi lehet ennek az oka? A kérdésre legalább három válasz adható. Formai és tartalmi jellegük egyaránt.

Lássuk először röviden az indukált fit modellt! Koshland cikkét az amerikai akadémia lapjában, a nagy presztízsnek örvendő PNAS-ban (*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*) publikálta 1958-ban, természetesen angolul. Igen fontos, hogy nemcsak az elmélettel „állt elő”, hanem nevet is adott a gyereknek, bevezetve az *induced fit* kifejezést (Koshland, 1958).

Straub és Szabolcsi cikke 1964-ben oroszul jelent meg, ráadásul nem is folyóiratban, hanem egy könyvsorozatban, amelynek az adott kötete a Vladimir A. Engelhardt professzor, a szovjet molekuláris biológia atyja tiszteletére rendezett konferencia előadásainak szerkesztett változatát tartalmazta. Így először magyar és szovjet kutatók „haraptak rá” a témára. Az első és sokáig egyetlen cikk, ami az új hipotézist segítségül hívva értelmezte a kísérleti adatokat, az akkoriban Moszkvában vendégkutató, egyébként a Straub és Szabolcsi vezette MTA Biokémiai Intézetben dolgozó Závodszy Péter és orosz társszerzői, L. V. Abaturvov és Ja. M. Varsavszkij (Ya. M. Varshavsky) hidrogén-deutérium kicserélődésen alapuló munkája volt, ami 1966-ban bár angolul, de magyar kiadású folyóiratban, az *Acta Biochimica et Biophysica Academiae Scientiarum Hungaricae* 1. évfolyamában jelent meg (Závodszy et al., 1966). Ezt követően Straub az 1967-es IUB (International Union of Biochemistry) konferenciáján, Tokióban, a plenáris előadások egyikén beszélt az új hipotézisről, ami nyomtatásban is megjelent a konferenciakiadványban (Straub, 1967). Azonban sem ez, sem az eredeti, sem Závod-

szkyék cikke nem nevezi néven a jelenséget, nem használja a *fluktuációs fit* terminus technicist! A szintén a Biokémiai Intézetben dolgozó Keleti Tamás, az enzimkinetika hazai úttörője 1967-ban publikált elméleti munkájában (ő is a „magyar aktában”) próbálkozott a névadással, a kézenfekvő „Straub–Szabolcsi-elmélet” elnevezést használva (Keleti, 1967).

A „fluktuációs fit” (*fluctuation fit*) szókapcsolat – ami kétségtelenül kongeniális, hiszen a jelenség lényegének megragadásán túl azt is jelzi, hogy az *induced fit* elmélet alternatívájául szolgál, csak 1969-ben jelenik meg először nyomtatásban, a Biokémiai Intézet vezető kutatóinak az Akadémiai Kiadó által kiadott német nyelvű alapművében (*Strukturelle Grundlagen der biologischen Funktion der Proteine*), amelyhez Straub írta az előszót. Érdekes ezzel kapcsolatban megjegyezni, hogy a nevezetes könyv a szerzők nagydoktori disszertációján alapult – avagy fordítva, a fejezetek képezték az értekezések alapját. A könyv anyagának első változata már 1963-ban készült. Szabolcsi 1963-ban írt és 1964-ben megvédett értekezésében még csak a Koshland-féle *induced fit*-et tárgyalja, hasonlóképpen Keleti Tamáshoz, aki 64-ben írta meg disszertációját. Az átdolgozott kézirat 1967-re készült el (magyar nyelven), s ebben már mindketten tárgyalják a „Straub–Szabolcsi-féle elméletet”, és ekkor jelenik meg először a *fluktuációs fit* elnevezés Szabolcsi fejezetében – egyelőre csak kéziratban.⁴ A német nyelvű könyv publikálására még várni kellett 1969-ig. Ebben Szabolcsi részletesen, összehasonlító ábrával együtt tárgyalja a két mechanizmust (*induzierten Anpassung* és *fluktuierenden An-*

³ Itt és más magyar nyelvű munkákban is általában ebben a formában szerepel.

⁴ A disszertációk és a kéziratok megtalálhatóak az MTA TTK Enzimológiai Intézet könyvtárában.

passung) (Szabolcsi, 1969). Keleti – hiszen nem saját elméletéről van szó – rövidebben érinti a témát, azonban ő írja le először angolul a *fluctuation fit* kifejezést, a német szövegben idézőjelbe téve az angol szavakat (Keleti, 1969). Öt év telt el az elmélet megszületése óta!

Ezután még négy év telt el, amíg a fluktuációs fit mechanizmusa részletesen leírva és néven nevezve angolul és sokak által olvasott kiadványban hozzáférhetővé vált. Egy izraeli kutató, Nathan Citri (1973) terjedelmes összefoglaló munkájában adekvát módon és az indukált fit alternatívájaként ismerteti az elméletet, kiemelve a „mély konceptuális különbséget a ligandum szelektív és instruktív szerepe között”. Érdekes megjegyezni, hogy maguk a szerzők nem láttak ekkora különbséget a két mechanizmus között, és Szabolcsi Gertrud (1969) már idézett munkájában közös sémán szemlélteti őket. A molekuláris felismerés mai egységes szemlélete ebben nekik ad igazat. (Bővebben lásd Csermely et al., 2010; Vértessy – Orosz, 2011 és a bennük lévő hivatkozások.)

Az elkövetkező évtizedekben főként magyar kutatók hivatkoztak a fluktuációs fitre és az 1964-es cikkekre. (A hivatkozásokért lásd Vértessy – Orosz, 2011, valamint Závodszy – Hajdú, 2012.) A legfontosabb kivétel Keith Brocklehurst és munkacsoportja, akik négy cikkükben is említik az elméletet. Érdekes módon, csak az elsőben (Brocklehurst et al., 1983) hivatkoznak az eredeti közleményre („fluctuation fit” by Straub and Szabolcsi [1964; cited by Polgár, 1978]), a későbbiekben már csak a Polgár-féle (Polgár – Halász, 1978) cikket említik.

Ennek az idézési gyakorlatnak a kézenfekvő magyarázata az eredeti orosz nyelvű cikk hozzáférhetetlensége és a nyugati kutatók

általi „olvashatatlansága”. Ez lehet az oka annak is, hogy a 90-es évektől kezdve a fluktuációs fitet említő, szórványosan megjelenő publikációk Straub és Szabolcsi orosz nyelvű publikációja helyett Straub szintén 1964-ben megjelent angol nyelvű összefoglalójára hivatkoznak (Straub, 1964), amely azonban csak a fehérjék szerkezetével és dinamikájával foglalkozik, a fluktuációs fittel nem. Nem kivételek ez alól a magyar szerzők sem! (Érdekes módon a váltás ideje nagyjából egybeesik a kelet-európai „létező szocializmus” összeomlásával.) Több mint egy évtized telt el 1989 után addig, míg az eredeti közleményt először magyar kutatók (Csermely et al., 2010; Vértessy – Orosz, 2011), majd nyomukban mások (Fenwick et al., 2011; Boehr, 2012) is „újra felfedezték”.

Ám igazat kell adnunk Závodszy Péternek: lényeges tartalmi oka is volt annak, hogy az elmélet nemzetközi szinten csaknem feledésbe merült: „A fluktuációs fit nem számított ortodox nézetnek abban az időben, s mint minden, ami megelőzi korát, jobbra visszahang nélkül marad. Egy új módszerrel történő megközelítésre, a proton NMR térhódítására volt szükség e területen, hogy a hetvenes évek végén a molekuláris dinamika feléledve, végleg elfoglalja helyét az enzimikus folyamatok értelmezésében.” (Závodszy, 1984)

Ez azonban már „más név alatt” történt. Sokáig különböző néven (*population selection*, *selected fit*, *conformational selectivity*) szerepelt, míg végül a 2000-es években főként Ruth Nussinov és munkatársai munkássága révén a konformációs szelekció (conformational selection) elnevezés vált a legelterjedtebbé (Tsai et al., 2001). Bár még 2009-ben is azt olvashattuk rangos folyóiratban, hogy a konformációs szelekció a „molekuláris felismerés új paradigmája”, amint arra másutt részletek-

be menően rámutattunk, a két koncepció alapvetően ugyanaz (Vértessy – Orosz, 2011). Ezt követően mások is megfogalmazták a fluktuációs fit és a konformációs szelekció ekvivalenciáját (Fenwick et al., 2011),⁵ és ezt a konformációs szelekció élharcosai is elismerték (Boehr, 2012).

Reneszánsz?

A rendszerbiológia és az adatvezérelt kutatási elv megszületésével, az enzimológia korábbi aranykorának számos lényegi mechanisztikus eredménye és ezek megközelítése sajátos és sajnálatos módon Csipkerózsika-álomba merült. Ám fontos tudnunk, hogy az új, nagy áteresztőképességű módszerek eleve nem képesek olyan adatokat szolgáltatni, amelyek adott kérdések pontos molekuláris mechanizmusát tisztázni tudják. Így tehát nagy az igény azon adekvát „hercegekre”, akik ezt a korábban már megszületett aranybányát megfelelően kiaknázzák, hogy a teljes tudományos közösség „boldogan éljen, míg meg nem hal”. Törekvéseink (Csermely et al., 2010; Vértessy – Orosz, 2011, Závodszy – Hajdú, 2012)⁶ arra irányulnak, hogy a korai úttörő munkák kellő elismerése ma is meglegyen. A biomolekuláris felismeréssel foglalkozó most megjelent tanulmányok mutatják, hogy ez a törekvésünk nem hiábavaló (Fenwick et al., 2011; Bohr, 2012), Straub és Szabolcsi elméletének Csipkerózsika-álma végleg véget ért.

⁵ „We consider fluctuation fit and conformational selection to be equivalent.” (A fluktuációs fitet és a konformációs szelekciót azonosnak tekintjük.)

⁶ A szerzők ezúton nyugtázzák Csermely Péter és Závodszy Péter hasonló erőfeszítéseit.

Kulcsszavak: *Szabolcsi Gertrud, Straub F. Brunó, fluktuációs fit, indukált fit, molekuláris felismerés, konformációs szelekció*

IRODALOM

- Boehr, David D. (2012): Promiscuity in Protein-RNA Interactions: Conformational Ensembles Facilitate Molecular Recognition in the Spliceosome. *Bioessays*. 34, 174–180. • DOI 10.1002/bies.201100152
- Brocklehurst, Keith – Willenbrock, S. J. – Salih, E. (1983): Effects of Conformational Selectivity and of Overlapping Kinetically Influential Ionizations on the Characteristics of pH-dependent Enzyme Kinetics. Implications of Free-Enzyme pKa Variability in Reactions of Papain for Its Catalytic Mechanism. *Biochemical Journal*. 211, 701–708. • <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1154417/>
- Citri, Nathan (1973): Conformational Adaptability in Enzymes. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*. 37, 397–648.
- Csermely Péter – Palotai R. – Nussinov, R. (2010): Induced Fit, Conformational Selection and Independent Dynamic Segments: An Extended View of Binding Events. *Trends in Biochemical Sciences*. 35, 539–546. doi: 10.1016/j.tibs.2010.04.009 • <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3018770/>
- Fenwick, R. Bryn – Esteban-Martín, S. – Salvatella, X. (2011). Understanding Biomolecular Motion, Recognition, and Allostery by Use of Conformational Ensembles. *European Biophysical Journal*. 40, 1339–1355. doi: 10.1007/s00249-011-0754-8 • <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3222826/>
- Fischer, Emil (1894): Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. 27, 3, 2985–2993. • DOI: 10.1002/cber.18940270364
- Keleti Tamás (1967): Effect of Steric Changes in the Protein on the Kinetics of Enzymic Reactions. I. Rapid Equilibrium Treatment of Reactions with One Substrate. *Acta Biochimica et Biophysica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 2, 31–37.
- Keleti Tamás (1969): Reaktionskinetik, Wirkungsmechanismus und aktives Zentrum under besonderer Berücksichtigung der NAD-Dehydrogeasen. In: Dévényi Tibor – Elődi P. – Keleti T. – Szabolcsi G.: *Strukturelle Grundlagen der biologischen Funktion der Proteine*. Akadémiai, Budapest, 317–522.
- Koshland, Daniel E. (1958): Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 44, 98–104. • <http://www.pnas.org/content/44/2/98.full.pdf+html>
- Polgár László – Halász Piroška (1978): Evidence for Multiple Reactive Forms of Papain. *European Journal of Biochemistry*. 88, 513–521. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1978.tb12477.x • <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1432-1033.1978.tb12477.x/pdf>
- Straub F. Brunó (1964): Formation of the Secondary and Tertiary Structure of Enzymes. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*. 26, 89–114.
- Straub F. Brunó (1967): Sh Groups and Ss Bridges in the Structure of Enzymes. In: *Proceedings of the 7th International Congress of Biochemistry Tokyo, Aug 19–25 1967. (Iub Series)*. 36, 41–50.
- Straub F. Brunó – Szabolcsi Gertrud (1964): O dinamicheskikh aspektah strukturi fermentov. (Remarks on the Dynamic Aspects of Enzyme Structure.) (In Russian; Abstract in English). In: Braunstein, Alexander Evseevich (ed.): *Molekularnaya Biologiya: Problemi and Perspektivi*. Izdatelstvo Nauka. Moscow: 182–187.
- Szabolcsi Gertrud (1969): Über die strukturellen Grundlagen der Enzymwirkung. In: Dévényi Tibor – Elődi P. – Keleti T. – Szabolcsi G.: *Strukturelle Grundlagen der biologischen Funktion der Proteine*. Akadémiai, Budapest, 593–691.
- Tsai, Chung-Jung – Ma, B. – Sham, Y.Y. – Kumar, S. – Nussinov, R. (2001): Structured Disorder and Conformational Selection. *Proteins*. 44, 418–427. • DOI: 10.1002/prot.1107
- Vámos Éva (2010): Scientific Couples in Hungary. *Kaleidoscope*. 1, 164–172.
- Vértessy Beáta – Orosz Ferenc (2011): From „Fluctuation Fit” To „Conformational Selection”: Evolution, Rediscovery, and Integration of a Concept. *Bioessays*. 33, 30–34. • DOI: 10.1002/bies.201000068
- Závodszy Péter (1984): Fehérjék térszerkezetének egyensúlyi dinamikája. A környezeti hatások által keltett szerkezetváltozások mechanizmusa. *Biokémia*. 8, 35–38. • <http://www.mbkgy.hu/docs/biokemfl/pdf/b198403.pdf#z00m=100%>
- Závodszy Péter – Hajdú István (2012): Evolution of the Concept of Conformational Dynamics of Enzyme Functions Over Half of a Century: A Personal View. *Biopolymers*. In print • DOI: 10.1002/bip.22159
- Závodszy Péter – Abaturov, L. B. – Varshavsky, Y. M. (1966): Structure of Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase and Its Alteration by Coenzyme Binding. *Acta Biochimica et Biophysica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 1, 389–402.