

# **PhD értekezés tézisei**

**Az aktin konformációs és dinamikai tulajdonságainak  
tanulmányozása fluoreszcencia spektroszkópiás módszerekkel**

**dr. Hild Gábor**

**Pécsi Tudományegyetem  
Általános Orvostudományi Kar  
Biofizikai Intézet**

**2001**

## **PhD értekezés tézisei**

**Az aktin konformációs és dinamikai tulajdonságainak  
tanulmányozása fluoreszcencia spektroszkópiás módszerekkel**

**dr. Hild Gábor**

**Program megnevezése: Biokémia és molekuláris biológia**  
**Programvezető: Dr. Sümegei Balázs, egyetemi tanár**  
**Alprogram megnevezése: Funkcionális fehérjedinamika**  
**vizsgálata biofizikai módszerekkel**  
**Alprogramvezető: Dr. Somogyi Béla, egyetemi tanár**

**Pécsi Tudományegyetem**  
**Általános Orvostudományi Kar**  
**Biofizikai Intézet**

**2001**

## BEVEZETÉS

Az aktin felfedezése Straub F. Brúnó nevéhez fűződik, aki 1942-ben elsőként izolálta és nevezte el ezt az izomfehérjét. A későbbi vizsgálódások során derült ki, hogy ez a fehérje nem csak az izomban található meg, hanem például a sejtekben található citoskeletonnak is alapvető alkotóeleme. Elektronmikroszkópos felvételekből már korán nyilvánvalóvá vált, hogy a monomerekből felépülő aktin filamentumot füzérszerűen elhelyezkedő gyöngyök sorozatának tekinthetjük. A fehérje elsődleges szerkezetének tisztázása 1973-ban történt meg. Az aktin szálakat felépítő monomerek nagyfelbontású röntgendiffrakciós kísérletekkel történő feltérképezésére irányuló kitartó munkájuk eredményeképpen Kabsch és munkatársai 1990-ben bemutatták az aktin monomer DN-áz I-el alkotott komplexének háromdimenziós atomi szerkezetét. Még ugyanebben az évben Holmes és munkatársai orientált aktin filamentumokból álló géleken végzett röntgendiffrakciós kísérleteik eredményét összevetve a monomerekre kapott háromdimenziós képpel, megalkották az aktin filamentum atomi modelljét.

A 375 aminosavból felépülő, 43 kDa relatív molekulatömegű fehérje két formában, monomer vagy más néven globuláris (G-aktin), illetve a monomerekből nem kovalens kötéssel létrejövő polimer vagy más néven filamentális (F-aktin) formában fordulhat elő. A monomer szerkezete két doménre osztható, melyek közül a kisebb domént a szubdomén 1 és 2, míg a nagyobb domént a szubdomén 3 és 4 alkotja. A két domén közötti hasadéokban helyezkedik el egy nagy affinitású kationkötő hely, mely *in vivo* valószínűleg magnézium iont tartalmaz. A szubdomének közötti hasadéokban a fehérjéhez, illetve az ott elhelyezkedő kétértékű kationhoz kötve található egy ATP molekula is. A négy szubdomént hidrogén és ionos kötések kötik össze az ATP-vel és a kétértékű kationnal, stabilizálva ezzel a molekula szerkezetét. Az aktin filamentum szerkezetét közelebbről szemügyre véve megfigyelhető, hogy a filamentum geometriailag jellemezhető mint egy balmenetes,

egyszálú hélix (“genetikus hélix”) valamint leírható két, egymásra tekeredő szálból álló jobbmenetes hélixként is.

Az izomrostokban a vékonyfilamentumban található aktin szerepét az izomösszehúzódnak folyamatában legtöbbször passzívnak tekintették. Az aktív résztvevő a “motor” fehérjének tekintett miozin, mely az ATP molekulák hidrolízisével nyert kémiai energiát mozgási energiává átalakítva mozdul el az aktin filamentumok biztosította vázon. Ezzel szemben Straub. F. Brúnó már az általa először használt “aktin” elnevezéssel is a fehérjének az izomkontrakcióban betöltött alapvető és aktív szerepére utalt.

Az aktin filamentum eltérő konformációs állapotai és flexibilitása közötti kapcsolat az izom összehúzódnakában fontos szerepet játszhat. A különböző keresztkötő molekulák valamint az aktin környezetének fiziko-kémiai tulajdonságaiban beállt változások hatásait az aktin dinamikai tulajdonságaira többször részletesen vizsgálták. Hegyi György és munkatársai az aktin filamentumot felépítő monomerek összekötésére alkalmas keresztkötő molekulák alkalmazása esetén a filamentumokat merevebbnek találták. A megváltozott flexibilitással párhuzamosan az in vitro motilitási próbával vizsgált polimerek mobilitása csökkent. Véleményük szerint megfigyeléseik az aktin dinamikájának az izom kontrakciójában betöltött alapvető szerepét támasztják alá. A fehérje dinamikai tulajdonságai, a környezeti paraméterek változásainak hatására is módosulhatnak. Egyes kutatók szerint jelentős flexibilitásbeli különbségek mutathatók ki az aktin monomerek és filamentumok eltérő kationtartalmú formái között. Az aktin monomerekhez kötődő kation minősége alapvető hatással van a fehérje szerkezeti és funkcionális tulajdonságaira. A vizsgálatok nagy száma ellenére nem alakult ki egységes álláspont a kötött kétértékű kationoknak az aktin filamentum flexibilitására kifejtett hatásáról.

Az aktin filamentumokat körülvevő környezet fiziko-kémiai jellemzőinek egyike a pH, mely mind fiziológias (intenzív munkavégzés), mind patológias (szívizom iszkémia) körülmények között jelentősen lecsökkenhet az izomsejten belül.

Mindkét esetben elmondható, hogy az érintett izomrész funkciójának károsodása, a kifejtett erő csökkenése a pH csökkenésének egyik alapvető következménye. A csökkent hatékonyságú energiatermelés nyilvánvaló szerepe mellett az intracellulárisan csökkent pH szerepe az izom megváltozott működésében még nem tisztázott kérdés. A pH változás a szívizomsejteken belüli kontraktilis és szabályozó fehérjék működését is jelentősen befolyásolja. Az akto-miozin komplex tulajdonságainak a változó pH értékek hatására bekövetkező változását vizsgálva Kron és munkatársa kimutatta, hogy az aktin filamentumok mozgása leállt, amint a puffer oldat pH-ját pH 8.5-ről pH 6.5-re csökkentették. Ezen kísérletes megfigyelések felvetik a kérdést, hogy noha a változó pH miozin molekulákra kifejtett hatását kizárni nem tudjuk, vajon az oldat pH értékének változása hatással van-e az izom mechanikai funkciójára az aktin molekulák dinamikai tulajdonságainak befolyásolásán keresztül.

A csökkenő pH érték meggyorsítja a monomerek polimerizációját, megnöveli a monomerek dimerizációs készsége, valamint lecsökken az aktin kritikus koncentrációja. A változó pH érték hatással lehet továbbá az aktin monomerek konformációs állapotára és kationkötő képességére is. Mindezen megfigyelések tovább erősítik azt a feltevést, mely szerint az aktin molekulák változó pH hatására bekövetkező szerkezeti és/vagy dinamikai változásai fontos szerepet játszhatnak az izomműködés során.

Az eddigi vizsgálatok eredményei alapján alapvető fontosságúnak tekinthető az aktin filamentumok "passzív" jelenléte mellett, a fehérje dinamikai ("aktív") tulajdonságaiban beállt változások szerepe az izomműködés molekuláris alapjainak pontos megértésében mind fiziológias, mind patológias körülmények között.

## CÉLKITŰZÉSEK

Kísérleteink során a környezeti paramétereknek az aktin filamentumok dinamikai tulajdonságaira kifejtett hatását vizsgáltuk.

- Kísérleteink első felében arra az eddig nem tisztázott kérdésre kerestük a választ, hogy a kalcium ion jelenlétében polimerizált aktin filamentumok flexibilitása milyen mértékben különbözik a magnézium ion jelenlétében polimerizált filamentumok dinamikus tulajdonságaitól.

- Válaszolni kívántunk továbbá arra a kérdésre is, hogy a fellelhető dinamikai különbségek vajon az aktin filamentumot felépítő monomereken belüli, illetve a monomerek közötti dinamikus kapcsolatot milyen mértékben érintik.

- Kísérleteket végeztünk annak eldöntésére, hogyan befolyásolja a fiziológiás és patológias körülmények között egyaránt változó intracelluláris pH az F-aktint felépítő protomerek (az aktin filamentumba beépült monomerek) közötti dinamikus kapcsolatot.

- A változó pH értékeknek az aktin filamentumokon belüli inter-monomer flexibilitásra kifejtett hatását mind a filamentumok kalcium ionnal telített (“aktivált filamentum” modell), mind magnéziummal telített (“relaxált filamentum” modell) állapotában jellemezni kívántuk.

## ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

### **Az aktin preparálása valamint fluorofórral és spinjelölővel történő módosítása**

Méréseinkhez az aktint nyúl harántcsíkt izomból preparáltuk. Fluoreszcencia spektroszkópiás méréseinkhez az aktin monomeren a 374-es pozícióban lévő ciszteint IAEDANS-al illetve IAF-el jelöltük. Az aktin monomeren a 41-es pozícióban lévő glutamin jelölése FC-vel történt. Az F-aktin molekulán a 374-es pozícióban lévő ciszteint az ESR mérésekhez MSL molekulával jelöltük-el a.

### **Ioncsere az aktinon; az aktin polimerizációja**

A kalcium tartalmú G-aktinból történő, magnézium iont tartalmazó G-aktin preparálása a Strzelecka-Golaszewska és munkatársai által leírt módon történt. A G-aktin polimerizációja nagy ionerősségen a megfelelő kétértékű kation jelenlétében történt.

### **Spektrofotometria**

A vizsgált minták abszorpcióját termosztálható mintatartójú Shimadzu UV–2100 típusú spektrofotométerrel határoztuk meg.

### **Steady-state fluoreszcencia mérések**

A steady-state fluoreszcencia méréseket termosztálható mintatartóval ellátott Perkin-Elmer LS50B típusú spektrofluoriméterrel végeztük.

### **Fluoreszcencia-élettartam és anizotrópia lecsengés mérések**

Az időfüggő fluoreszcencia mérések termosztálható mintatartóval ellátott ISS K2 típusú (ISS Fluorescence Instrumentation, Champaign, IL, USA) multi-frekvenciás fázisfluoriméterrel történtek.

Vizsgálataink során az átlagélettartamok hőmérséklettől való függésének jellemzésére az Arrhenius analízist alkalmaztuk:

$$(\tau_{\text{átlag}})^{-1} = k_0 + A \exp(-E^* / RT)$$

ahol  $k_0$  egy hőmérséklettől független sebességi állandó,  $A$  a frekvenciafaktor,  $E^*$  az aktivációs energia,  $T$  az abszolút hőmérséklet,  $R$  pedig az egyetemes gázállandó. Az anizotrópia lecsengés mérések kiértékelése során kettős exponenciális függvény szerinti lecsengést feltételeztünk:

$$r(t) = r_1 \exp(-t / \varphi_1) + r_2 \exp(-t / \varphi_2)$$

ahol a  $\varphi_i$  a rotációs korrelációs idő  $r_i$  amplitúdóval.

### **Fluoreszcencia rezonancia energiatranszfer (FRET) mérések**

Fluoreszcens donor-akceptor párt alkotó fluorofórok esetén az energiatranszfer hatásfokát a következő módon határozhatjuk meg:

$$E = 1 - (F_{DA} / F_D)$$

ahol  $F_{DA}$  a donor intenzitása akceptor jelenlétében,  $F_D$  pedig akceptor nélkül. Az energiatranszfer hatásfokának ismeretében kiszámolható a donor és az akceptor molekulák közötti távolság ( $R$ ) a következő egyenlet alkalmazásával:

$$E = R_0^6 / (R_0^6 + R^6)$$

ahol  $R_0$  az úgynevezett Förster-féle kritikus távolság, ahol a donor és akceptor molekulák közötti energiatranszfer hatásfoka 50%-os. Kiszámítása a következő összefüggés alapján lehetséges:

$$R_0^6 = (8.79 \times 10^{-11}) n^{-4} \kappa^2 \phi_D J$$

ahol  $n$  a közeg törésmutatója,  $\kappa^2$  a donor-akceptor molekula relatív pozícióját jellemző orientációs faktor,  $\phi_D$  a donor molekula fluoreszcencia kvantumhatásfoka és  $J$  a donor fluoreszcencia spektruma és az akceptor abszorpciós spektrumának átfedési integrálja.

Az átfedési integrál kiszámítására a következő összefüggés nyújt segítséget:

$$J = \int F_D(\lambda) \epsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda / \int F_D(\lambda) d\lambda$$

ahol a  $F_D(\lambda)$  a donor molekula fluoreszcencia emissziós spektruma,  $\epsilon_A(\lambda)$  az akceptor molekula abszorpciója a hullámhossz ( $\lambda$ ) függvényében.

Fluoreszcens festékekkel jelölt fehérjék esetén meghatározható egy paraméter ( $f$  vagy  $f'$ : a fluoreszcencia rezonancia energiatranszfer hatásfokának és a donor molekula akceptor jelenlétében mért kvantumhatásfokának vagy intenzitásának hányadosa), mely paraméter hőmérséklettől való függésének nyomonkövetésével lehetőség nyílik a fehérje eltérő flexibilitású és/vagy konformációs állapotú formái közötti különbség kimutatására:

$$f = \langle E \rangle / \langle \phi_{DA} \rangle \text{ vagy } f' = \langle E \rangle / F_{DA}$$

A fenti kifejezésben  $\phi_{DA}$  a donor kvantumhatásfoka az akceptor molekula jelenlétében. Az  $f$ , illetve  $f'$  értéke egyaránt függ a vizsgált rendszer szerkezeti és dinamikai tulajdonságaitól, és az alkalmazott donor és akceptor molekulák spektrális paramétereitől:

$$f = \langle E \rangle / \langle \phi_{DA} \rangle = d n^{-4} J \langle R_i^{-6} \kappa_i^2 \rangle$$

Az  $f$  paraméter hőmérsékletprofilja (a megfelelő spektrális paraméterek figyelembevételével) flexibilisebb fehérjerész esetén meredekebb a merevebb formával összehasonlítva abban az esetben ha a fehérje szerkezetében bekövetkező jelentős konformációváltás kizárható.

## ESR spektroszkópia

A konvencionális és szaturáció transfer ESR (ST-EPR) spektrumokat ESP 300E (Bruker, Germany) spektrométerrel mértük.

## EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

### *Kétértékű kationok hatása az aktin filamentumok dinamikai tulajdonságaira*

Attól függően, hogy az aktin monomerek nagy affinitású kationkötő helye milyen kétértékű kationnal telített, a belőlük polimerizált filamentumok flexibilitásában jelentős különbségek mérhetők. Vizsgálataink során célunk volt annak tanulmányozása, hogy nanoszekundumos (fluoreszcenciás mérések) és milliszekundumos (EPR mérések) időskálán milyen konformációs, illetve flexibilitásbeli változások figyelhetők meg az F-aktinban, ha a fiziológias körülmények között jelenlévő magnézium ion helyett kalcium ionnal telítjük a nagy affinitású kationkötő helyet. A különböző időskálákon elvégzett vizsgálatok a fehérje eltérő méretű szegmenseinek tulajdonságairól adhatnak felvilágosítást.

Az aktin monomer C-terminális végén lévő Cys-374 aminosavhoz kapcsolt IAEDANS molekula fluoreszcencia-élettartamát és anizotrópia lecsengését mértük a hőmérséklet függvényében. A hőmérsékletfüggő fluoreszcencia-élettartam mérések Arrhenius analízise (3. egyenlet) során mind az aktivációs energia ( $E^*$ ), mind a frekvencia faktor ( $A$ ) értéke kisebb volt a magnézium ionnal telített F-aktin esetén. A fluoreszcencia anizotrópia lecsengés mérések során mért rotációs korrelációs idők hosszú komponensének értékét 6 és 28°C között nagyobbak találtuk a nagy affinitású kationkötő helyen magnézium ionnal telített fehérje esetén. Ez a különbség azonban 28°C fölötti hőmérséklettartományon elhanyagolhatóvá vált. Ezen eredmények egyértelműen arra utalnak, hogy a Cys-374 aminosav környezetében lévő fehérjerész szerkezeti, illetve flexibilitásbeli tulajdonságai érzékenyek az aktin által kötött kation minőségére. A mérések alapján a magnézium ion tartalmú F-aktin molekulák merevebbnek mutatkoztak a kalcium iont tartalmazó formával összehasonlítva.

Az aktin monomer Cys-374 aminosavjához kapcsolt MSL molekula segítségével az aktinon szaturáció transzfer elektron paramágneses rezonancia méréseket

végeztünk. A paramágneses szondával jelölt filamentumokon végzett mérések azt mutatják, hogy a kalcium ionnak magnézium ionra történő cseréje a spinjelölő mozgékonyságának csökkenését eredményezte a milliszekundumos időskálán.

Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a kalcium ion jelenlétében polimerizált aktin filamentumok flexibilitása nagyobb, mint a magnézium ionok jelenlétében preparált filamentumoké. Az említett különbség mind a nanoszekundumos, mind a milliszekundumos időskálán kimutatható volt.

### *Az aktin filamentumok flexibilitásának vizsgálata fluoreszcencia rezonancia energiáttranszfer segítségével*

További méréseink során az  $f'$  paraméter felhasználásával arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a kalcium ion hatására bekövetkező flexibilitás növekedésért milyen mértékben tehető felelőssé a filamentumon belüli intra-monomer és/vagy inter-monomer flexibilitás megváltozása. Méréseink során az aktin monomerek 374-es számú cisztein aminosavjához fluoreszcens donor (IAEDANS) vagy fluoreszcens akceptor (IAF) molekulát kapcsolunk, majd az eltérő módon jelölt monomereket a monomerek polimerizációja előtt összekevertük. Ezen kísérleteinkben a monomerek polimerizációjával nyert filamentumokban az IAEDANS-IAF fluoreszcens donor-akceptor pár között számolt  $f'$  paraméter hőmérséklettől való függésének vizsgálatával a monomerek közötti flexibilitás tanulmányozására nyílt módunk. Egy másik jelölési folyamat során az IAEDANS-szel (fluoreszcens donor) már megjelölt monomerek 41-es számú glutamin aminosavjához FC (fluoreszcens akceptor) molekulát kapcsolunk. Az IAEDANS-FC donor-akceptor pár esetében számolt  $f'$  paraméter hőmérséklettől való függésének vizsgálatával az intra-monomer flexibilitást tanulmányoztuk. A relatív  $f'$  mind az intra-monomer, mind az inter-monomer flexibilitás vizsgálata során nagyobb flexibilitást mutatott a kalcium ionnal telített filamentumok esetén. Az inter-monomer flexibilitás mind a kalcium ionnal, mind a magnézium ionnal telített aktin filamentum esetén nagyobb volt az intra-

monomer flexibilitásnál. A 41-es glutamin és a 374-es cisztein aminosavak között mért távolság mind a kation minőségétől, mind a polimerizációtól függetlenül állandónak bizonyult, igazolva ezzel a két pont közötti fehérjeszerkezetben beállt konformációs változás hiányát.

Méréseink segítségével megállapítható volt, hogy a nagy affinitású kationkötő helyen kalciummal telített aktin filamentumok nagyobb flexibilitásának kialakulásában mind az intra-monomer, mind az inter-monomer kapcsolatok flexibilitásának növekedése szerepet játszik.

*A kalcium vagy magnézium iont tartalmazó aktin filamentumok inter-monomer flexibilitásának vizsgálata fiziológias és patológias pH értékeken*

Annak tisztázására, hogy az aktin filamentum dinamikája az intracelluláris pH változásának hatására megváltozik-e, hőmérsékletfüggő fluoreszcencia rezonancia energiáttranszfer méréseket végeztünk aktin filamentumokon különböző pH értékeken. Kísérleteink során a korábbiakban már ismertetett módon az aktin egyik populációját a 374-es számú cisztein aminosavon jelöltük meg IAEDANS-szel (fluoreszcens donor), míg egy másik populációt ugyanezen az aminosavon IAF-fel (fluoreszcens akceptor). Az inter-monomer flexibilitás vizsgálata során az  $f$  paraméter hőmérséklettől való függésének meghatározását mind kalcium-F-aktinon, mind magnézium-F-aktinon, pH 6.5, valamint pH 7.4 értékeknél végeztük el.

Magnézium-F-aktin esetén a relatív  $f$  paraméter változása szerint az alacsonyabb pH értéken a fluoreszcens donor-akceptor pár közötti proteinmátrix flexibilitása kisebb volt, azaz a vizsgált fehérjerész merevebbé vált, a magasabb pH értéken jellemzett flexibilitáshoz képest. Ezen megfigyeléssel összhangban, az alacsonyabb pH értéken a kalcium ionnal telített F-aktin esetében is merevebb fehérjestruktúrát tudtunk kimutatni, a fehérje magasabb pH értéken jellemzett flexibilitásával összevetve.

Méréseink során az inter-monomer flexibilitás az alkalmazott mindkét pH érték esetén nagyobbak bizonyult a kalcium ionnal telített aktin filamentumok esetén, ami alátámasztja korábbi, pH 8.0 érték mellett mért eredményeinket.

Eredményeinkből egyértelműen kimutatható, hogy az intracelluláris pH megváltozásának alapvető hatása van az aktin filamentum dinamikai állapotára, mely változás feltehetően az aktin és a miozin molekulák közötti kapcsolatot is jelentősen befolyásolhatja.

## AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Vizsgálataink során részleteiben tártuk fel a kalcium ionnak az aktin filamentum flexibilitására kifejtett hatását, melynek során az izomkontrakcióban résztvevő egyik kulcsszereplő fehérje alapvető dinamikai tulajdonságainak alaposabb megértésére nyílt módunk. Megállapítottuk, hogy a nagy affinitású kationkötő helyén kalcium iont tartalmazó aktin filamentum flexibilisebb a magnézium iont tartalmazó F-aktinnal összehasonlítva mind a nanoszekundumos, mind a milliszekundumos időskálán. Ezen következtetésünk igaznak bizonyult pH 8.0, pH 7.4 és pH 6.5 értékek mellett is.

Megállapítottuk, hogy a kalcium-F-aktin nagyobb flexibilitásának létrejöttében a filamentumon belüli inter-monomer, valamint az intra-monomer flexibilitás növekedése egyaránt szerepet játszik. Az inter-monomer flexibilitás növekedése erőteljesebbnek bizonyult a monomereken belüli flexibilitás növekedésével szemben.

Vizsgálatokat végeztünk a fiziológiás és patológias körülmények között egyaránt változó intracelluláris pH-nak, az aktin filamentumok flexibilitására kifejtett hatásának tisztázása érdekében. Méréseinkkel kimutatható volt, hogy a csökkent intracelluláris pH hatására az aktin filamentumokon belüli inter-monomer kapcsolatok merevebbé válnak. A filamentumok flexibilitásának alacsony pH hatására bekövetkező csökkenése kimutatható volt a modellezett “aktivált” (kalcium-F-aktin) és “relaxált” (magnézium-F-aktin) állapotban egyaránt.

Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy mivel a kalcium-F-aktin a miozinnal történő összekapcsolódásban résztvevő aktin filamentumot reprezentálja (“aktivált” filamentum), valószínűleg a húzási ciklus azon fázisában, ahol az aktin és a miozin közötti közvetlen kapcsolat létrejön, az erőkifejtésben az aktin filamentum flexibilisebb szereplőként vesz részt, a “relaxált” állapotával összevetve. Az eredményes erőkifejtés alapját képezi, hogy az aktin filamentum megfelelő dinamikai állapotban legyen. Ezen megállapítást erősíti az a megfigyelés is, hogy az intracelluláris pH értékének csökkenését az izom teljesítménycsökkenése kísérheti,

mely teljesítménycsökkenésre az intracelluláris pH csökkenés hatására az aktin filamentumokban kialakuló csökkent flexibilitás is jellemző. Az aktin filamentum megváltozott dinamikai állapota az aktin és a miozin molekula közötti kapcsolatot jelentősen befolyásolhatja, melyet az akto-miozin komplex megváltozott működése egyértelműen tükrözhet.

## A PhD ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

- **Hild G**, Nyitrai M, Belágyi J, Somogyi B, “The Influence of Divalent Cations on the Dynamic Properties of Actin Filaments: A Spectroscopic Study” *Biophys J.* 1998; 75: 3015-3022.
- Nyitrai M, **Hild G**, Belágyi J, Somogyi B, “The flexibility of actin filaments as revealed by fluorescence resonance energy transfer. The influence of divalent cations” *J Biol Chem* 1999; 274(19):12996-3001.
- **Hild G**, Nyitrai M, Somogyi B, “Inter-monomer flexibility of Ca- and Mg-actin filaments at different pH values” (A “*Journal of Molecular Biology*” című újsághoz közlésre beküldve).

## EDDIG MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

- Nyitrai M, **Hild G**, Hartvig N, Belágyi J, Somogyi B, “Conformational and dynamic differences between actin filaments polymerized from ATP- or ADP-actin monomers” *J Biol Chem*, paper in press. Accepted on September 25, 2000.
- Nyitrai M, **Hild G**, Lukacs A, Bodis E, Somogyi B, “Conformational distributions and proximity relationships in the rigor complex of actin and myosin subfragment-1” *J Biol Chem* 2000; 275(4):2404-9.
- Nyitrai M, **Hild G**, Belágyi J, Somogyi B, “The flexibility of actin filaments as revealed by fluorescence resonance energy transfer. The influence of divalent cations” *J Biol Chem* 1999; 274(19):12996-3001.
- **Hild G**, Nyitrai M, Belágyi J, Somogyi B, “The Influence of Divalent Cations on the Dynamic Properties of Actin Filaments: A Spectroscopic Study” *Biophys J*. 1998; 75: 3015-3022.
- Nyitrai M, **Hild G**, Lakos Zs, Somogyi B, “Effect of Ca<sup>2+</sup> Mg<sup>2+</sup> Exchange on the Flexibility and/or Conformation of the Small Domain in Monomeric Actin” *Biophys J*. 1998; 74(5): 2474-2481.
- Nyitrai M, **Hild G**, Belágyi J, Somogyi B, “Spectroscopic Study of Conformational Changes in Subdomain 1 of G-Actin: Influence of Divalent Cations” *Biophys J*. 1997; 73 (4): 2023:2032.

- **Hild G**, Nyitrai M, Gharavi R, Somogyi B, Belágyi J, “Fluorescence Quenching of the Tryptophan Emission from the F- and G-forms of Actin” *J Photochem Photobiol B*. 1996; 35(3): 175-179.