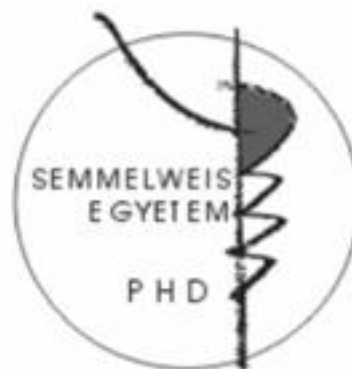


# A dezmin nanomechanikai vizsgálata

Doktori tézisek

**Dr. Kiss Balázs**

Semmelweis Egyetem  
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kellermayer Miklós egyetemi tanár, az orvostudományok doktora

Hivatalos bírálók: Dr. Horváth Róbert tudományos főmunkatárs, Ph.D.  
Dr. Prohászka Zoltán tudományos főmunkatárs, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Ligeti Erzsébet egyetemi tanár, az MTA tagja  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Buday László egyetemi tanár, Ph.D.  
Dr. Kovács Mihály tudományos főmunkatárs, Ph.D.

Budapest  
2012

## Bevezetés

A dezmin a harántcsíkolt- és simaizom intermedier filamentuma. Az intermedier filamentumok az eukarióta sejtek citoplazmáját átszövő citoskeleton közepes vastagságú fehérjéi, melyek elektronmikroszkópos képen 8-12 nm átmérőjűek. A fehérjék sejten belüli szerepe nem tisztázott teljes mértékben, valószínűleg erős mechanikai vázat képeznek, de szerepet játszhatnak a sejt jelátviteli folyamataiban is. A dezmin a legtöbb izomfésülésben megtalálható, kivéve bizonyos nagy erek simaizomfalát, ahol a vimentin a fő intermedier filamentum. A dezmin a harántcsíkolt izomban a Z-lemezek körül alkot komplexet, míg simaizomban a kompakt szerkezetű, ún. „dense body”-val képez asszociátumot, s ezen keresztül a kontraktilis elemeket csatolja a sejthártyához. Az 53 kDa molekulású dezmin monomer pálcika alakú, melynek központi részét négy darab  $\alpha$ -helikális domén alkotja. A doméneken belül előforduló apoláris aminosavak (leucin, izoleucin, valin) periodikus ismétlődése a filamentum „csavart csavar”, „coiled-coil” dimer szerkezetének kialakításában alapvető fontosságú. Az egymás után következő 7 aminosav által képzett lánc (más néven heptád) első és negyedik tagja hidrofób aminosav, melyek oldallánca a fehérje térszerkezetéből adódóan mindig a peptidlánc ugyanazon oldalára esik.

Az intermedier filamentumokra spontán, ATP-t, GTP-t nem igénylő polimerizáció jellemző, amely már alacsony ionerősségű (0,01 M alatti  $\text{Na}^+$ , illetve  $\text{Mg}^{2+}$  koncentráció) közegben is létrejön. A polimerizáció első lépéseként két parallel monomer egymás körül elcsavarodva, alakítja ki a 48 nm hosszú „csavart csavar”, „coiled-coil” dimert, melyet az előzőleg említett apoláris aminosavak közti kölcsönhatások stabilizálnak. A további polimer szerkezetek kialakulását elektrosztatikus kölcsönhatások segítik: két antiparallel dimer egymáshoz képest nagyjából 15 nm-t elcsúsztatva tetramert formál, ezek oldalirányú kapcsolódásával jönnek létre az érett dezminhez hasonlóan 10 nm átmérőjű, de annál jóval rövidebb, 60 nm hosszúságú ún. „unit-length” filamentumok (ULF). A dezmin esetében a polimerizáció az ULF-ek hosszanti kapcsolódását jelenti, melyek végül több mikrométer hosszúságú filamentummá állnak össze. Az érett filamentum szerkezetén belül ultrastrukturális vizsgálómódszerekkel vastagabb protofibrillumok, illetve vékonyabb protofilamentumok különíthetők el.

Az intermedier filamentumok feltételezett szerepe a sejt mechanikai stabilitásának biztosítása. Éppen ezért a filamentumok mechanikai tulajdonságai alapvetően befolyásolhatják a sejt szerkezetének, integritásának a külső erőhatásokkal szembeni fennmaradását. Például izomműködésnél az izomrostoknak a hosszirányú feszüléssel

szemben ellenállónak kell lenniük, viszont ezzel párhuzamosan oldalirányú erőhatásra rugalmasan kell viselkedniük. A mechanikai stresszel szembeni fokozott ellenállás modellje szolgálhat alapul számos, dezminnel kapcsolatos betegség tünettanáinak megértésében. A dezmin monomer mutációi izomdisztrófiákhoz (izomsorvadás), és kardiomiopátiákhoz (szívizom-elfajulás) vezetnek. Ezeknek a betegségeknek a leggyakoribb kiváltó oka a dezmin monomer  $\alpha$ -helikális doménjén belüli pontmutáció, amely különböző polimerizációs defektusokhoz vezethet. A polimerizáció gyakran elakad valamely köztes lépésnél, vagy a részlegesen kialakult szerkezet egy szabálytalan szerkezetű prekuzorra bomlik, mely a sejtekben aggregátumként jelenik meg. A dezmin izomsejtekben betöltött stabilizáló szerepét mutatja, hogy az izom szerkezeti károsodásának mértéke számszerűsítve a dezmin-immunoreaktivitás eltűnésével (azaz a dezmin mennyiségének csökkenésével) arányos. A dezmin eltűnése a Z-lemezek körül együtt járt a titin elhelyezkedésének megváltozásával. Mivel a titin az izmon belül feltételezhetően passzív, hosszanti mechanikai stabilizáló elem, így lehetséges, hogy egy extra-szarkomerikus citoszkeleton (dezmin,  $\alpha$ -aktinin, plectin) stabilizálja az intraszarkomerikus citoszkeleton (titin, nebulin).

## Célkitűzések

Mivel az intermedier filamentumoknak a sejten belül erőátviteli szerepet, illetve mechanikai stabilizáló funkciót tulajdonítanak, elsődleges célom az izomszövetben előforduló intermedier filamentum, a dezmin rugalmasságának jellemzése volt. Azt terveztem, hogy a rugalmasság jellemzésére izolált, hordozófelszínhez adszorbeált egyedi dezmin molekulákon végezhető atomerómikroszkóp-alapú erőspektroszkópiát alkalmazok. A filamentum, illetve a filamentumot felépítő alegységek rugalmas tulajdonságainak ismeretében további célom volt egy olyan modell kidolgozása, mely alátámaszthatja a feltételezett erőátviteli funkciót. Az alábbi, konkrét kísérleti protokollt terveztem meg:

- 1) Dezmin izolálása csirke zúzából,
- 2) Az izolált dezmin specifikus kimutatása immunoblot eljárással,
- 3) Dezmin polimerizálása, polimerizáció kinetikájának időbeli követése,
- 4) Polimerizált, filamentummá összeállt dezmin morfológiájának vizsgálata pásztázó atomerómikroszkóppal (AFM),
- 5) Dezmin filamentum rugalmas tulajdonságainak vizsgálata,
- 6) *In situ* AFM egyedi dezmin filamentumokon.

Az egyedi filamentumokon végzendő rugalmasságmérés mellett célom volt a teljes filamentum keresztmetszetére kiterjedő rugalmassági paraméter meghatározása a hordozófelszínhez adszorbeálódott filamentumok geometriai-orientáció eloszlása alapján, mely a morfológiai információt szolgáltató 3D-AFM módszer alkalmazásával elvégezhető. Így ebből esetleg egy független, az előző mérésekkel összehasonlítható, második rugalmassági paraméter származtatható, mely mindenképpen a teljes filamentumot jellemzi, szemben a korábban említett célkitűzéssel, melynél nem zárható ki, hogy a filamentumnál kisebb alegységeket ragadok meg az AFM-rugólapka tűjével.

Végül a filamentumot felépítő építőkövek (protofilamentumok, protofibrillumok) rugalmassági paramétereinek meghatározását tűztem ki harmadik fő célomnak, melyhez már érett, összeszerelődött dezmin filamentumok felhasználását terveztem. Mivel a filamentum szerkezetének stabilizálásában az ionos kötések jelentős szerepet játszanak, a filamentális szerkezetet az ionos kötésekkel interferáló, kétértékű kationokra specifikus komplexképzőkkel (bisz-aminoetil-glikoléter-tetraecetsav: EGTA, illetve etilén-diamin-tetraecetsav: EDTA) terveztem felbontani.

## **Anyagok és módszerek**

Dezmin monomer molekulákat csirkeizából izoláltam, mely során kálium-jodidos extrakció, majd azt követő anioncserélő oszlopkromatográfia történt erősen denaturáló körülmények között (6M urea). A szeparálási eljárás során nyert minták tisztaságát denaturáló poliakrilamid gélelektroforézissel ellenőriztem, valamint immunoblot eljárással a dezmin jelenlétét specifikusan is igazoltam. A fehérjéket jégen tároltam a további vizsgálatokhoz. A dezmin polimerizálása az ureát eltávolító dialízist követően NaCl, illetve MgCl<sub>2</sub> hozzáadásával történt.

Az egyedi molekulák meghatározott nagyságú erőre adott rugalmas válaszát AFM-mel mértem. Az AFM egy nagyfelbontású pásztázó-szondás berendezés, amellyel a molekulával való kölcsönhatás során egy meghatározott rugóállandójú rugólapka elmozdulását követjük, s nagyítjuk fel a lapkáról reflektálódó lézernyaláb segítségével. A kísérleti elrendezés során pufferezt környezetben hordozófelülethez kötött dezmin nyújtottam meghatározott sebességgel, miközben a rugólapka elhajlásából mértem a molekulában ébredő erő nagyságát. Az egyedi molekulák rugalmas viselkedése a molekula megnyújtása során fellépő rugalmas erők ismeretében megszerkesztett erő-megnyúlás görbe alapján vizsgálható. Az erő-

megnyúlás görbék értékelésére, leírására több modell alkalmas. Az általam alkalmazott modell a Wormlike Chain (WLC), ami úgy tekint a molekulára, mintha az egy hajlékony rúd volna. A modellt leíró egyenlet összefüggést teremt a polimerekre jellemző mechanikai paraméterek között, melyek a következők: a kontúrhossz, ami egyenlő a teljesen kinyújtott molekula hosszával; a vég-vég hossz, ami a molekula két végpontja közötti távolság; és végül a molekula hajlítómerevségét jellemző ún. perzisztenciahossz, ami megmutatja, hogy a molekula milyen rövid szakasza tekinthető még merev rúdnak.

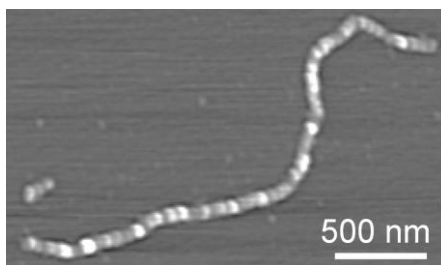
A perzisztenciahossz emellett meghatározható a felszínre adszorbeálódott, beszárított filamentumok geometriai orientáció-eloszlása alapján is, amennyiben a filamentumok felszíni kitapadására elegendő időt hagyva feltételezzük, hogy a filamentumok felszíni elhelyezkedése hűen tükrözi az oldatbeli orientációt, azaz a regisztrált AFM-es kép az oldatbeli háromdimenziós orientáció kétdimenziós „lennyomata”.

A dezmin filamentumok szerkezetének fellazítását foszfátkezeléssel végeztem, illetve a filamentumokat kétértékű kationokra specifikus kelátorokkal bontottam fel: a  $\text{Ca}^{2+}$  ionokra jóval specifikusabb EGTA-t egészen 21 napos inkubációs időn át, míg a  $\text{Mg}^{2+}$  iránt nagyobb affinitást mutató EDTA jellemzően 2 órán át került alkalmazásra.

A dezmin filamentumokról, illetve a kémiai kezelés hatására megjelenő fibrilláris polimerizációs intermedierekről a minták negatív festését követően transzmissziós elektronmikroszkópos felvételek készültek.

## Eredmények

Az izolált dezminről készült gélelektroforetogram alapján a minták átlagosan 97 %-os tisztaságúak, a fehérje koncentrációja Bradford Assay alapján 1,37 mg/ml. A dezmin polimerizációját 320 nm-es hullámhosszon fényszórásméréssel mértem, a polimerizáció

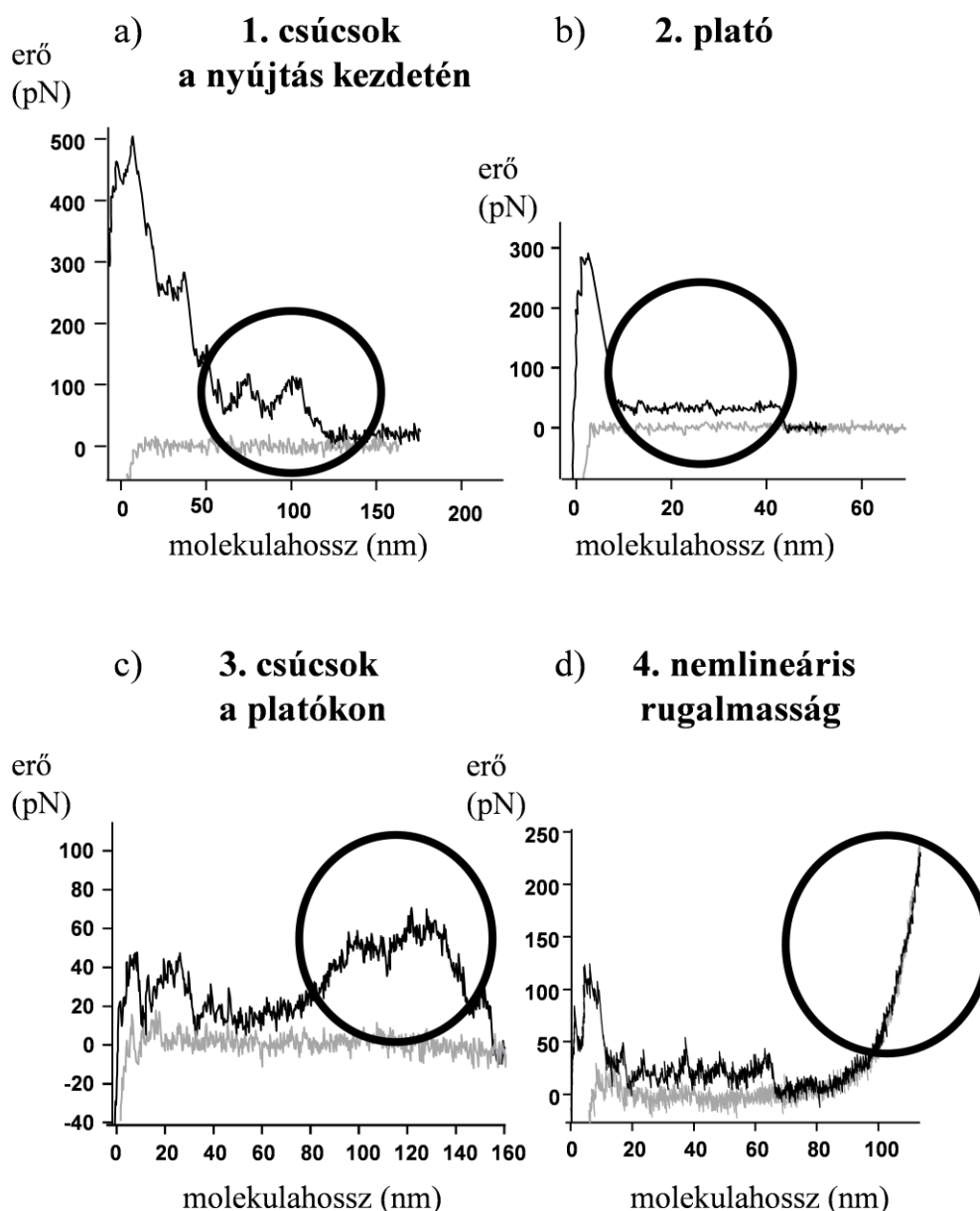


**1. ábra:** Dezmin filamentum csillámfelszínen.

időállója ~800 s, így nagyjából 1 óra elteltével már csaknem teljes a polimerizáció. A polimerizációban és a morfológiában nem tapasztaltam lényeges különbséget a NaCl-dal, illetve  $\text{MgCl}_2$ -dal kezelt minták esetén. Az AFM-mel készült képek alapján mért filamentum átmérő 50 nm körüli (**1. ábra**), mely jóval szélesebb, mint az irodalomban az elektronmikroszkópos képek alapján elfogadott 10 nm. Ennek magyarázata a filamentumok

ellapulása a hordozófelszínen, illetve a rugólapka hegyének a mintával összemérhető görbületi sugara.

A dezmin molekulákat nonspecifikusan az AFM-rugólapka végén levő tűvel fogtuk meg, majd feszítés-relaxáció ciklusokban manipuláltuk. A mérés során a molekulában kifejlődő rugalmas erőt regisztráltuk a megnyúlás függvényében, az adatokat grafikusán ábráztuk, majd elemeztük. Négyféle, egymástól eltérő, jellegzetes mechanikai választ



**2. ábra:** A dezmin jellegzetes molekulahossz-rugalmas erő függvényei. Minden grafikon egy teljes feszítés-relaxáció ciklust ábrázol. A fekete görbe (nagyobb erők) a molekula húzását, míg a szürke görbe (kisebb erők) a visszaengedést jelenti.

különböztettünk meg a manipuláció során, ezek pedig a következők voltak: 1) csúcsok a nyújtás kezdetén, 2) állandó nagyságú erő mellett tapasztalt megnyúlás, mely az erőgörbéken „plató” formájában jelentkezik, 3) a platókra szuperponálódó csúcsok, 4) nemlineáris rugalmasság (**2. ábra**).

A nyújtás kezdetén megfigyelhető csúcsokat egy átmeneti, viszonylag rövid platóként definiáltam, mely egy fokozatosan felfutó, illetve egy fokozatosan csökkenő szakaszú erőválaszt jelent. A csúcshoz tartozó erő, a csúcs-távolság illetve a megfigyelhető csúcsok száma alapján hisztogramokat készítettem. Az erő multimodális eloszlást mutat nagyjából 20, 40 és 60 pN maximumokkal, a nyújtás kezdetén tapasztalt hossznövekmény is multimodális eloszlású, 11, 22, 33 nm körüli kiugrásokkal. A kezdeti erőátmenetek száma leggyakrabban kettőnek adódott, de egyetlen esetben sem tapasztaltunk 4-nél több csúcsot egy ciklus során.

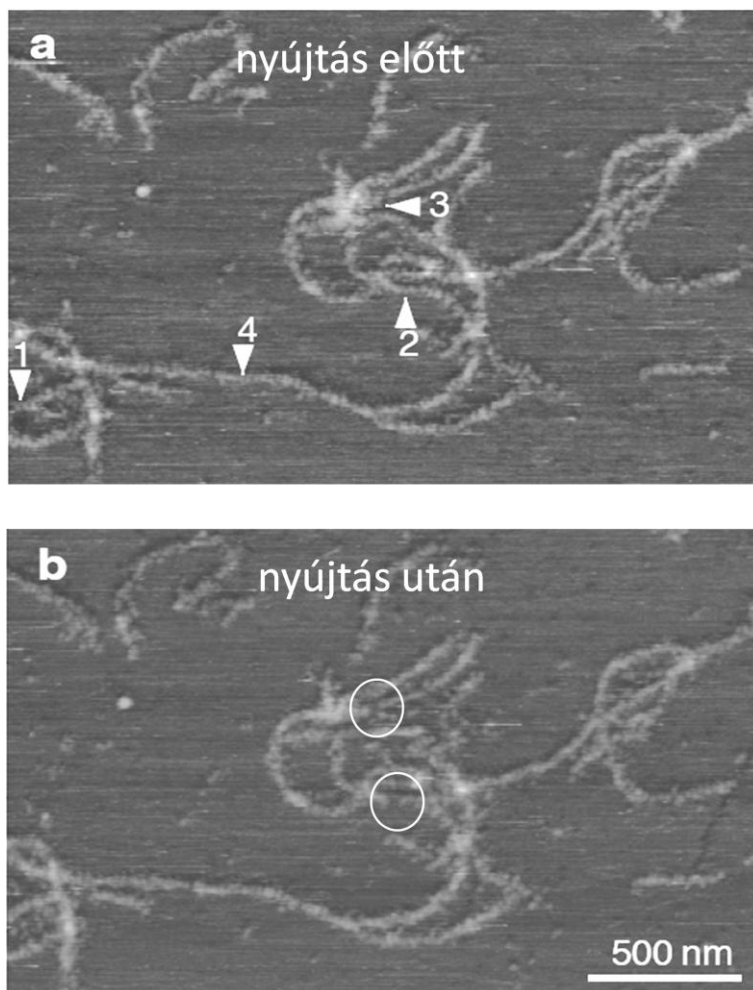
A dezmin mechanikai manipulációja közben megfigyelt másik jelenség az úgynevezett „plató”. Ilyenkor a rugólapka tujjével megragadott molekulaköteg nyújtása során fellépő erő állandó értéken marad, majd bizonyos megnyúlás elérése után hirtelen lecsökken. A platók analízise során a platómagasságot és a plató szélességét vizsgáltam. A platómagasság hisztogram multimodális eloszlást mutat, a csúcsok rendre 13, 26, 39 és 52 pN erőknél jelentkeznek. A platószélesség-eloszlás is multimodális, a csúcsok 12, 24, 36 és 48 nm körül figyelhetők meg.

Amennyiben a már korábban említett, felfutó és lefutó éllel jellemezhető erőválasz összességében 60 nm-nél hosszabb megnyúlással jár, azaz a megnyújtott molekula hossza meghaladja az ULF hosszát, akkor erőplatóra szuperponálódó csúcsként vettem figyelembe. A csúcsok szélességének gyakorisága 8, 16 és 24 nm-nél mutatott halmozódást, míg az erők esetében 25, 50 és 75 pN-os lokális maximumokat találtam.

Nagyobb, jellemzően 200 nm feletti megnyúlás esetén nemlineáris, fűrészfog-szerű, ismétlődő erőválaszokat regisztráltam. Ez a fűrészfog-mintázat rendszerint olyan polimerláncok nyújtásakor jelentkezik, melyeknél a kontúrhossz hirtelen lépésekben növekszik a nyújtás során. A mechanikai manipuláció során a molekulában kifejlődő maximális erő több száz pN is lehet, de legalább 30 pN-os erő volt jellemző a nemlineáris rugalmasságot mutató dezminre. Az nemlineáris erőválasz további analizisekor a görbékre a WLC entropikus polimer modellt illesztettem, mely alapján a dezmin hajlítómerevségét jellemző perzisztenciahossz módusza 0,4 nm. Ez az igen alacsony érték a denaturált fehérje rugalmasságát jellemezheti.

Az AFM-mel készült topografikus kép kiválasztott pontján mechanikai manipulációt végeztünk az éppen ott levő biológiai mintán a rugólapka vertikális mozgatásával. A nyújtás

után készült képen csak a két körrel jelzett helyen látható a teljes filamentum keresztmetszetére kiterjedő feloldható folytonosságihiány, jóllehet valamennyi manipulált



**3. ábra:** *In situ* AFM a dezmin filamentumokon. A nyílhegyek a manipulációk helyét jelzik. területről rugalmas, komplex erőválaszt nyertünk, azaz a manipulációk során vélhetően nem a teljes filamentumot fogtuk meg az AFM-rugólapka tujével (**3. ábra**).

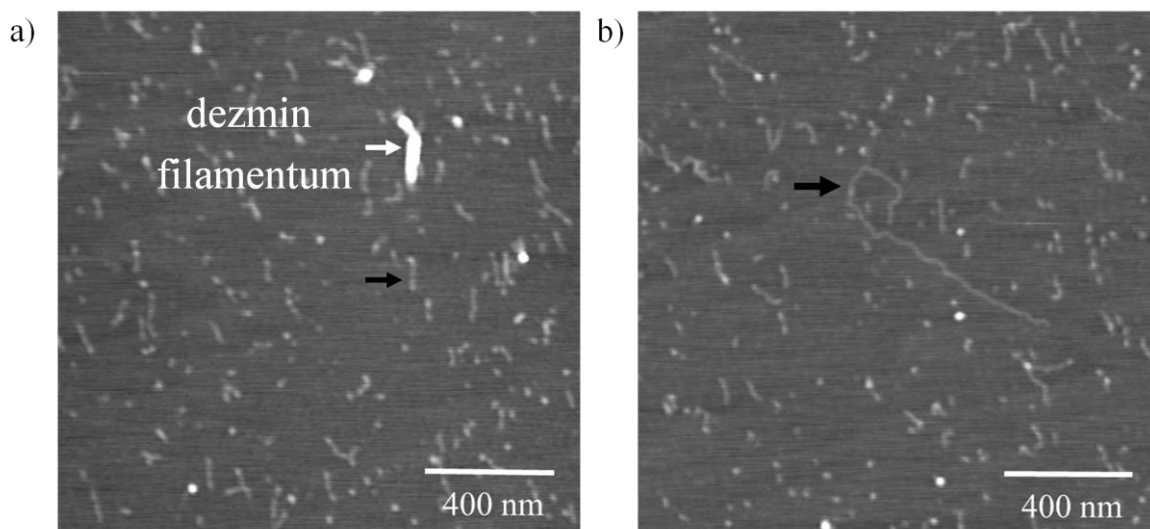
Elektronmikroszkópos mérések alapján a foszfátkezelés az intermedier filamentumok szétszerelődését indukálja. A foszfátkezelt dezmin erőválaszaiban az alábbi jelenségek voltak megfigyelhetők: 1) lecsökkent nyújtás kezdeti csúcs-távolság; 2) lecsökkent platószélesség; 3) lecsökkent kontúrhossz-növekmény és maximális erő a fűrészfog-mintázat esetén. Jellemző volt még emellett, hogy a nyújtás kezdetén megfigyelhető erőválasz rendszerint több (3-4) csúcsot tartalmazott.

A csillámfelületre adszorbeálódott dezmin filamentumok vég-vég hosszának, illetve kontúrhosszának ismeretében lehetőség nyílik a teljes dezmin filamentumra jellemző perzisztenciahossz meghatározására. Az átlagos négyzetes vég-vég távolság, illetve a kontúrhossz közötti exponenciális függvény alapján a teljes filamentum becslést



perzisztenciahossza  $\sim 0,45 \mu\text{m}$ , mely jól egyezik más intermedier filamentumok egyensúlyi rendszerben meghatározott perzisztenciahosszával. A dezmin filamentumot homogén rúdként modellezve megbecsülhető annak rugalmassági modulusa, mely esetünkben  $3,7 \text{ MPa}$ .

Kétértékű kation-kezelés jelenlétében a kisebb számban jelen levő dezmin filamentumok mellett, azoknál jóval alacsonyabb, illetve kisebb átmérőjű fibrilláris szerkezetek jelentek meg (**4. ábra**). Az AFM-es képek alapján az érett dezmin filamentumok



**4. ábra:** Dezmin filamentumok kezelése EGTA-val, (9 nap inkubáció). Az ábrán fekete nyilak mutatnak a fibrilláris struktúrákra, míg fehér nyíl mutat a dezmin filamentumra.

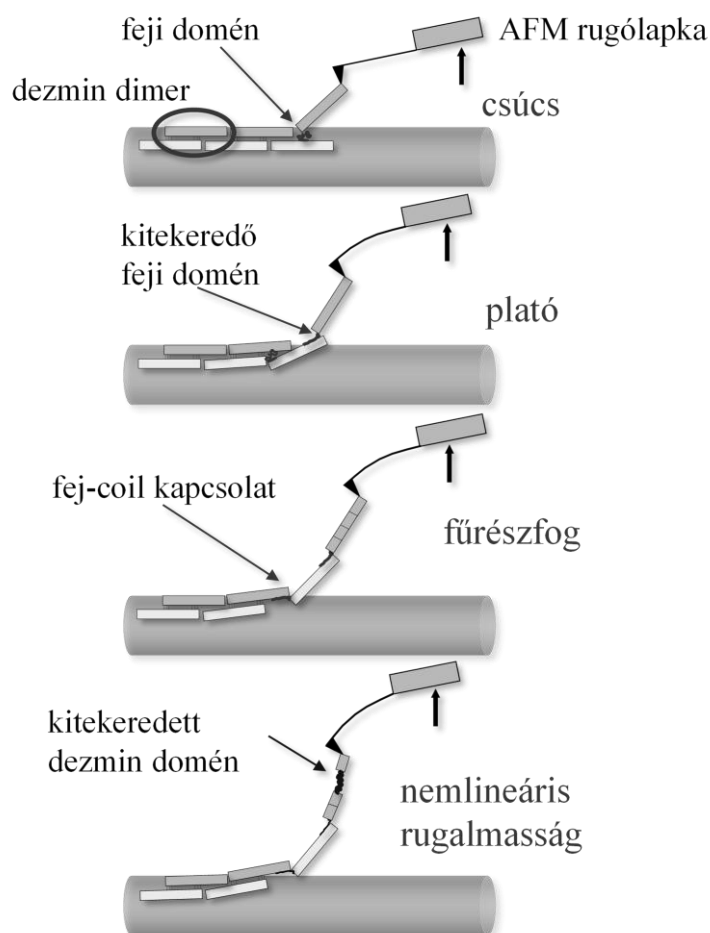
magassága átlagosan  $2,3 \text{ nm}$ , míg a fibrillumok átlagos magassága csupán  $0,3 \text{ nm}$ . A fibrilláris struktúrák valós szélessége  $25,5 \text{ nm}$ , míg a dezmin filamentumoké  $50,6 \text{ nm}$ , mely jelentős ellapulást jelent. A dezmin filamentumhoz hasonló arányú kilapulást figyelembe véve  $4,83 \text{ nm}$  átmérőjű hengerre jellemzőek a fibrillumok esetében mért magasság- és szélességértékek. Ez a kiszámított érték jól egyezik a keratin protofibrillumok átmérőjével, így feltételezéseim szerint EDTA és EGTA kezelés hatására a dezmin protofibrillumokra szerelődik szét.

A protofibrillumok orientáció-eloszlás alapján számolt perzisztenciahossza  $0,05 \mu\text{m}$ , mely jól korrelál a dezmin dimer hosszával ( $48 \text{ nm}$ ), míg rugalmassági modulusuk  $10,6 \text{ MPa}$ , nagyjából háromszorosa a dezmin filamentum rugalmassági modulusának.

A dezmin filamentumokról, illetve protofibrillumokról készült elektronmikroszkópos felvételek alapján a dezmin filamentumok átmérője átlagban  $10,3 \text{ nm}$ , míg a fibrillumok átlagos átmérője  $4,1 \text{ nm}$ . Mindkettő érték jó egyezést mutat az irodalmi adatokkal, illetve az AFM-es morfológia alapján a kilapulásra korrigált átmérővel, ami azt bizonyítja, hogy valóban protofibrillumokról van szó.

## Következtetések

A dezmin rugalmas erőválaszait összefoglaló empirikus modellünkben (5. ábra) a rugalmasságért felelős fő szerkezeti elem a coiled-coil dezmin dimer. A filamentumkötegben ezek a kisebb egységek gyengébb oldalirányú kapcsolatban vannak egymással, mely jól magyarázhatja a **csúcsok** megjelenését a nyújtás kezdetén. Ez a kezdeti disszociáció legtöbbször két lépésben történik és nem ritkán reverzibilis. Az **erőplatók** hátterében feltehetően olyan szerkezeti változások állhatnak, melyek a filamentum felszínén levő protofilamentumok folytonos leválasztódásával kapcsolatosak, illetve lehetséges, hogy  $\alpha$ -helikális coiled-coil domén kitékeredés és dimerek egymás melletti elcsúszásának kombinált következményei. Azt, hogy a dimerek közötti további csúszás vagy inkább protofilamentum

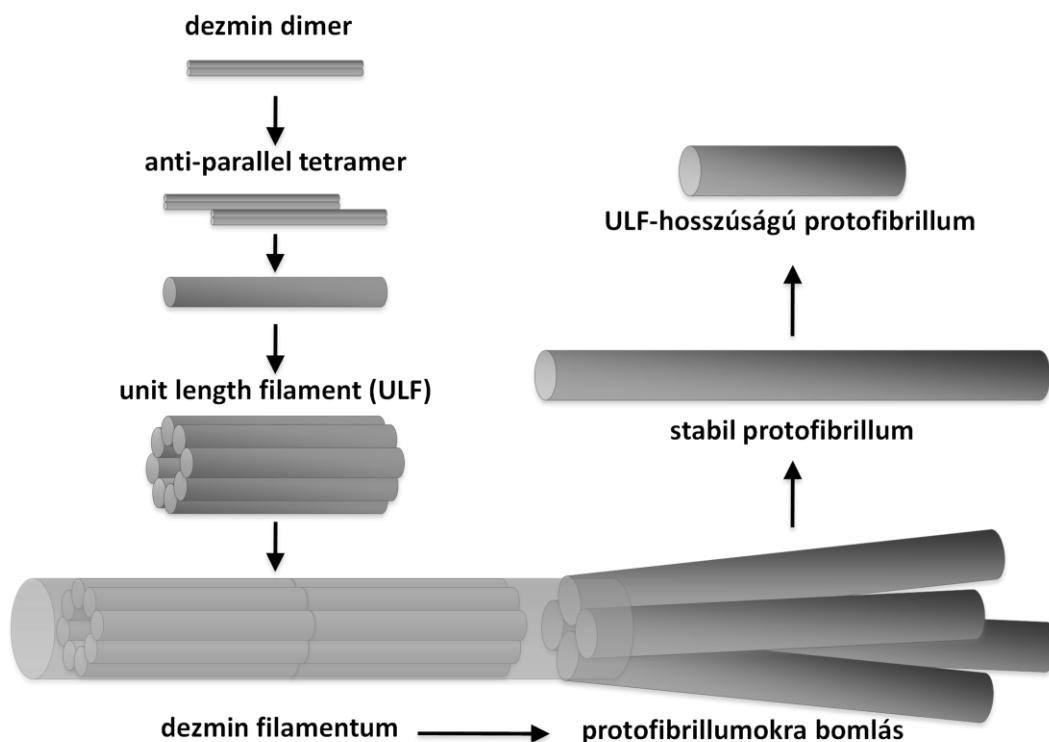


**5. ábra:** A dezminen végzett mechanikai manipulációhoz kötődő szerkezeti átmenetek

leválasztódás történik-e a továbbiakban, a filamentumra merőlegesen ható („szétcipzározó”), illetve a megnyújtott dezmin szál tengelyében ható („kitékerő”) erők közötti egyensúly szabja meg. A **fűrészfog** a dimer-fej és a szomszédos coil közti retesszerű kapcsolat megszakadását jelezheti, amennyiben ez a kapcsolat megszakad, de egy ugrást követően egy másik dimerrel

újra kialakul, az ismétlődő fűrészfogat eredményezhet az erőgörbén. A **nemlineáris erőválasz** már kitekeredett domének további nyújtásának eredménye lehet. Ez viszont feltételezi azt, hogy hosszirányú terhelésnél sokkal ellenállóbb a rendszer, ami vélhetően a protofilamentumok terminális doménjeinek erősebb kölcsönhatásaival magyarázható. A **foszfátkezelés** pedig vélhetően a dimerek közötti oldalirányú elektrosztatikus kölcsönhatást gyengíti.

Az EGTA és EDTA kezelések hatására vélhetően a dezmin dimereket oldalirányban összetartó ionos kölcsönhatások módosulnak (vagy a  $Mg^{2+}$  elvonás vagy pedig saját töltésük miatt). Ennek értelmében egy érett dezmin filamentum 4-5 önálló, stabil entitásként létező protofibrillumra szerelődik szét (**6. ábra**). Ez a jelenség viszont azt jelenti, hogy a dezmin filamentumok összeszerelődése, illetve szétszerelődése eltérő útvonalakat követ. A polimerizáció során a tetramerekből egy a teljes filamentum átmérőjének megfelelő vastagságú ULF képződik, majd az ULF-ek hosszanti asszociátuma hozza létre a dezmin filamentumot. A szétszerelődés során viszont a protofibrillumot hosszanti irányban összetartó erők vélhetően nagyobbak az oldalirányú erőkhöz képest, így a protofibrillum önálló struktúraként is megjelenhet *in vitro*. Mivel a dezmin filamentum nem egy „felnagyított” protofibrillum, nem homogén, izotrop test, így a viszonylag merevebb építőkövek (dimerek, protofibrillumok) ellenére is meglehetősen flexibilis vázat képez a sejtekben, miközben



**6. ábra:** Dezmin protofibrillumok kialakulásának modellje

hosszanti deformációval szemben rendkívül ellenálló. Ezek értelmében a dezmin egy rugalmas, ám ugyanakkor nyújtásnak ellenálló, stabil vázat biztosíthat az izomsejteknek.

## Új tudományos eredmények

Fentiek tükrében AFM-mel sikeresen meghatároztam a csirke zúzából izolált dezmin alapvető rugalmas erőválaszait:

- 1) A leggyakrabban megfigyelt mechanikai jelenség a molekula feszítésének kezdetén észlelt két diszkrét, nagyjából 20-60 pN nagyságú erőátmenet. Ez megfelelhet a 45 nm hosszú coiled-coil dezmin dimerek filamentális kötelékből történő kiszakadásának.
- 2) 60 nm-nél hosszabb protofilamentumok nyújtásakor platókat észleltem az erőgörbéken, melyekre rendszerint 16 nm-es távolságonként erő-csúcsok szuperponálódtak. Az erőátmenetek feltehetően protofilamentum-leválasztódás, dimer-dimer elcsúszás és coiled-coil domén kitekeredés együttes megnyilvánulásai.
- 3) A molekulakötegek további nyújtásakor nemlineáris, entropikus rugalmasság dominált, mely részlegesen denaturált dezmin dimerek mechanikai tulajdonságát tükrözheti.

Megmértem a molekula nyújtása során a hajlítómerevséget jellemző átlagos perzisztenciahosszt, a 0,4 nm-es érték azonban vélhetően a teljesen denaturált dezmin rugalmasságát jellemzi.

A pásztázás során nyert képeken a filamentumok geometriai orientáció-eloszlását vizsgáltam, a teljes filamentum keresztmetszetére kiterjedő perzisztenciahossz ennek alapján 0,45  $\mu\text{m}$ .

Kétértékű kation kelátorok, EGTA, illetve EDTA hozzáadásával a már polimerizálódott dezmin filamentumok órák, illetve napok alatt stabil, fibrilláris struktúrákra bontottam szét, melyeket a topografikus képek alapján meghatározott átmérő, illetve keresztmetszet alapján protofibrillumokként azonosítottam.

A dezmin filamentumok foszfátkezelésével rávilágítottam arra, hogy a dezmin erőválaszai alapján a kezelés eredményeként a dimerek közötti oldalirányú elektrosztatikus kölcsönhatás gyengül.

## Saját publikációk jegyzéke

1. **Kiss, B**, Karsai, A, Kellermayer, MS. (2006) Nanomechanical properties of desmin intermediate filaments. *J Struct Biol* 155: 327-339.
2. **Kiss, B**, Rohlich, P, Kellermayer, MS. (2011) Structure and elasticity of desmin protofibrils explored with scanning force microscopy. *J Mol Recognit* 24: 1095-1104.
3. Meyer, GA, **Kiss, B**, Ward, SR, Morgan, DL, Kellermayer, MS, Lieber, RL. (2010) Theoretical predictions of the effects of force transmission by desmin on intersarcomere dynamics. *Biophys J* 98: 258-266.