

Beszámoló Eötvös ösztöndíjjal támogatott külföldi tanulmányút eredményeiről

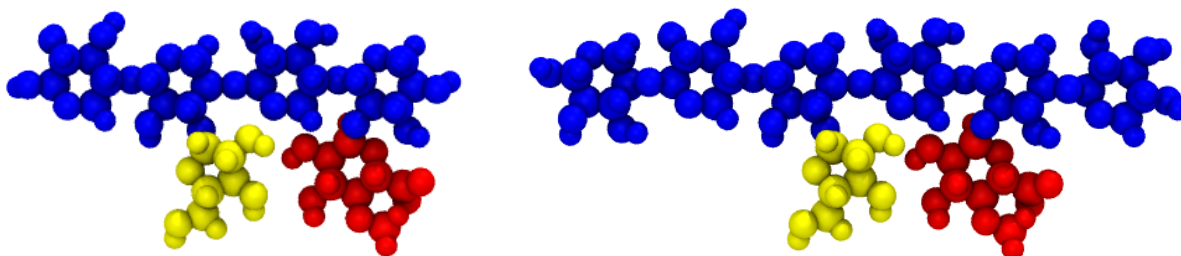
Célország: Ausztria

Kiutazás ideje: 2022 szeptember - 2023 február

Motiváció

A project célja xilán hemicellulózra jellemző szubsztitúciós mintázatok hatásának vizsgálata a cellulóz-hemicellulóz kölcsönhatásra. Egyes szubsztituensek kombinációja gyakoribb előfordulást mutat, ami arra utal, hogy ezen mintázatoknak speciális funkciójuk lehet a hemicellulóz-cellulóz kölcsönhatás szabályozásában. Molekuláris szimulációs módszerek egyedi lehetőséget biztosítanak ezen mintázatok hatásának és a kialakított kölcsönhatások molekuláris részleteinek tanulmányozására. Ebben a kutatásban egy sajátos, eddig nem alkalmazott megközelítést alkalmazunk a lehetséges szubsztitúciós mintázatok hatásának tanulmányozására: mivel a szóba jöhető kombinációk és kiosztásuk száma a xilán lánc hosszának növekedésével kombinatorikusan nő, illetve az egyre hosszabb láncok egyensúlyi viselkedésének tanulmányozásához szükséges szimulációs idők exponenciálisan nőnek, ezért korábbi szimulációs munkákban mind a szubsztitúciós mintázatok, mind a láncok cellulóz kristályon való elhelyezkedésében nagymértékű önkényességet alkalmaztak. Ezzel viszont az elérhető eredmények általános érvényűségét is rendkívüli mértékben korlátozták.

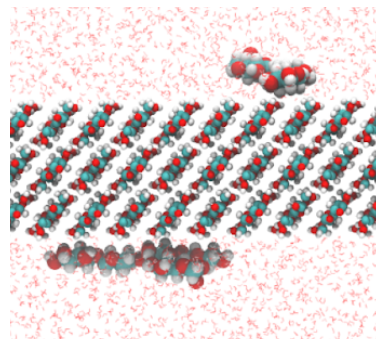
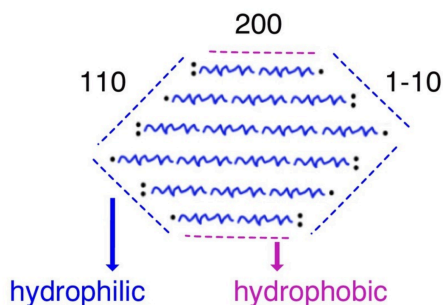
Ezzel szemben ebben a munkában azt javasoltuk, hogy daraboljuk fel képzeletben a hosszú xilán láncokat, és kis, tetramer és hexamer hosszúságú xilán láncdarabok adszorpciós affinitását és adszorpciós szerkezetét tanulmányozzuk molekuláris szimulációval. Az ilyen rövidebb egységeken a szóba jöhető (két szubsztituenset tartalmazó) kombinációk még kezelhető számúak. Munkánkban gyakoribb glükuronsav és ritkább, de ugyancsak tipikus arabinóz szubsztituenseket vizsgáltunk. A két szubsztituensből álló mintázatokból a két glükuronsavat, illetve egy glükuronsavat és egy arabinózt tartalmazókat vizsgáltuk. A két szubsztituenset egymástól (a tetramer hosszából fakadó korlátok miatt) 1,2, vagy 3 xilóz egységnyi távolságra helyeztük el (egy xilóz sosem tartalmaz két szubsztituenset). A továbbiakban az alábbi jelöléseket fogjuk használni az egyes motívumok leírásához: szubsztituálatlan xilóz: X, xilóz glükuronsav szubsztituenssel: U, illetve xilóz arabinózt szubsztituenssel: A. Az 1-es ábra illusztrálja az egymástól két xilóz távolságra levő arabinózt és glükuronsavat tartalmazó tetramer (XAXU) és hexamer motívumokat (XXAXUX).



1-es ábra: Az egy szubsztituálatlan xilózzal elválasztott arabinóz (sárgával kiemelve) és glükuronsav (pirossal jelölve) szubsztituensekkel dekorált tetramer (XAXU, balra) és hexamer (XXAXUX, jobbra) xilán motívumok. A molekulák xilozil gerincét kékre színeztük.

Látni kell, hogy a tetramer hosszúságú láncok nem minden tekintetben fogják a xilán viselkedését valóságosan reprezentálni, vagyis bizonyos megfigyelt szerkezeti jellegzetességek a láncok rövidegéből adódnak. Ezért döntöttünk úgy, hogy az összes motívumot hexamer láncokon is tanulmányozni fogjuk. Ezeket a hexamer molekulákat úgy hoztuk létre, hogy a tetramer láncokhoz előlről is és hátulról is hozzáfűztünk egy-egy xilóz egységet (ld. az 1-es ábrát). A tetramer és hexamer láncok összehasonlításából következtethetünk arra, hogy melyek a csupán a láncok rövidegéből fakadó jellegzetességek, és melyek az adott motívumra jellemző tulajdonságok. Ezáltal lényegében az eredményeket extrapolálhatjuk realisztikus lánc hosszúságokra.

Egy másik fontos sarokköve a munkának a vizsgált cellulózfelületeket érintik. Konszenzus látszik kialakulni arról, hogy a cellulóz láncok 36 vagy 24 láncból álló hatszöges keresztmetszetű kötegekbe rendeződnek. Egyes eredményeket interpretáltak úgy is, hogy ezek konzisztensek lehetnek egy négyszöges elrendeződéssel is, de az ezt alátámasztó eredmények intenzív vita tárgyát képezik. Eredetileg ezért vettük be a vizsgálatba a csak a négyszöges elrendeződésre jellemző (0,1,0) felületet is. Végül ezt a felületet elvetettük egyrészt a négyszöges forma relevanciájának kétségessége miatt, másrészt ennek a felületnek az érdekessége miatt, mely nem tette lehetővé az egyensúly kialakulását rövidebb tetramer hosszúságú motívumok esetében a meglehetősen hosszú szimulációs idők (1000 ns) dacára sem.



2-es ábra. Cellulóz láncok legvalószínűbb hatszöges elrendeződése (balra) a legjellemzőbb kristálytanilag különböző felületekkel. Ebben a munkában valamennyit külön-külön figyelembe vettük. Jobbra a (1,1,0) felületből készített slab geometriájú elrendezés látható 1-1 xilán proxy molekulával a slab felső és alsó felén. A szimulációs cellákban minden irányban periodikus határfelületeket alkalmaztunk. A két xilán proxy rendelkezésére álló teret egy csak velük kölcsönható számukra áthatolhatatlan fallal választottuk ketté.

Ehelyett bevettünk egy új felületet a munkánkba, mely a kísérleti eredmények túlnyomó többsége által alátámasztott hatszöges alakra jellemző. Ezt illusztrálja a 2-es ábra. A hatszög "felső" és "alsó" oldalát adó "hidrofób" (2,0,0) felület mellett két kristálytanilag különböző hidofil felület is van: a (1,1,0) illetve a (-1,1,0). Ez utóbbit hagytuk ki az eredeti vizsgálatból, melyet aztán bevettünk az elhagyott (0,1,0) felület helyett. Szimulációinkban nem közvetlenül a hatszöges cellulózkötegeket vizsgáltunk, mivel egy ilyen rendszer mindhárom felületet egyszerre tartalmazza. Ehelyett sokkal nagyobb kiterjedésű, ideális cellulóz kristályból kivágott lemezszerű ("slab") geometriával rendelkező elrendezéseket vizsgáltunk. Ennek az az előnye, hogy a xilán proxy molekulák számára csupán egyetlen felület érhető el, vagyis specifikusan az egyes felületekkel kialakított kölcsönhatások egymástól függetlenül vizsgálhatók.

3-3 szubsztitúciós motívumot vizsgáltunk melyek vagy két glükuronsavat tartalmaztak (XUUX, XUXU, UXXU) vagy egy arabinózt és egy glükuronsavat (XAUX, XAXU, AXXU), illetve emellett a szubsztituátlan xilóz tetramer (XXXX) is a vizsgált molekulák közé tartozott. Ezen felül az ugyanezeket a motívumokat tartalmazó hexamer xilán proxy molekulákat is szimuláltuk

mind a három felületen. Minden slab geometria két oldalán egy-egy proxy molekulát helyeztünk el. A két térfelet csupán a proxykkal kölcsönható, azok számára átjárhatatlan fallal választottuk el. Minden szimulációt vizes közegben végeztünk, és a glükuronsavat a deprotonált formájában szimuláltuk, a keletkező töltéseket pedig a kísérleti eredményeknek megfelelően Ca^{2+} ionokkal kompenzáltuk. A szimulációs dobozok határán mindhárom irányban periodikus határfeltételeket alkalmaztunk. Minden szimulációt a CHARMM force fielddel végeztünk légköri nyomáson és szobahőmérsékleten. Minden rendszeren összesen 1000 ns hosszú szimulációt végeztünk.

Eddigi eredmények

Az összes tetramer szimuláció analízise elvégzésre került, de a hexamer szimulációk még futnak, azok befejeződése egy pár héten belül várható. Minden rendszerben három alapvető tulajdonságot vizsgáltunk: a xilán proxy molekulák gerincét adó xilóz egységek távolságát az egyes felületektől, a xilóz egységek és a felület síkja által bezárt szöveget, valamint a xilóz egységek cellulóz molekulákhoz képesti irányát. Kísérletekből tudjuk, hogy a xilán adszorbeálódik a felületen, a xilóz síkja párhuzamos a felülettel, valamint a xilán molekulák párhuzamosan rendeződnek a cellulóz molekulák mentén. Az egyes xilán proxy molekulák adszorpciós szerkezetét ehhez képest értelmeztük. Eredményeink alapján az adszorbeált xilóz egységek definíciójához egy egyszerű távolság alapú kritériumot lehetett javasolni, ennek alapján pedig az egyes szubsztitúciós motívumok affinitását tudtuk definiálni. Az eddigi eredmények alapján az alábbi főbb megállapításokat tehetjük:

- Egyértelmű preferencia látszik a (-1,1,0) hidrofil felületen való adszorpció iránt, ezt követi a (2,0,0) hidrofób felület, míg az (1,1,0) hidrofil felület iránt mutatkozik a legkisebb affinitás.
- Korábbi eredményekkel összhangban minden szubsztitúciós motívum gyengíti a cellulóz felület iránti affinitást a szubsztituálatlan xilóz oligomerhez képest.
- Minden felületen az egymás melletti glükuronsav szubsztitúció (XUUX) mutatta a legnagyobb romlást adszorpciós affinitás tekintetében.
- A legnagyobb affinitást a felülethez (az XXXX után) a XUXU motívum mutatta. A szimulációk alaposabb vizsgálata megmutatta, hogy ez amiatt van mert a két glükuronsav ugyanahhoz a Ca^{2+} ionhoz koordinálódik, ezáltal egyfajta kelát komplexet képeznek. Ez a szerkezeti egység nagyban stabilizálja a xilóz gerincet, ami így megőrzi a kompatibilitását a cellulóz felületekkel.
- Az arabinóz szubsztitúció nagyobb kompatibilitást (affinitást?) mutat az egyes felületekkel, mint a glükuronsav szubsztitúció.
- Nem várt erős eltérés mutatkozik a xilán proxy molekulák egyes végei (első és negyedik xilóz) között a cellulóz felületek iránti affinitás tekintetében.
- Amikor ezek a végek elválnak a felülettől, bizonyos szubsztituensek at tudják venni ezen végek szerepét a felülethez való kötődésben. Jóllehet ezen a téren várható a legtöbb nem természetes effektus, ami a xilán proxy molekulák rövid voltából fakad. Az eredmények tisztázásához szükség lesz a hexamer szimulációk analízisére is.

A visszalevő szimulációk befejeződését április végére várjuk, a munka eddig eredményeit tudományos publikáció formájában szeretnénk majd közölni. Ennek elkészültét nyár előttre várjuk.