

Konfigurert med tiden: Om proteinenes finstemte nanoteknologi ¹

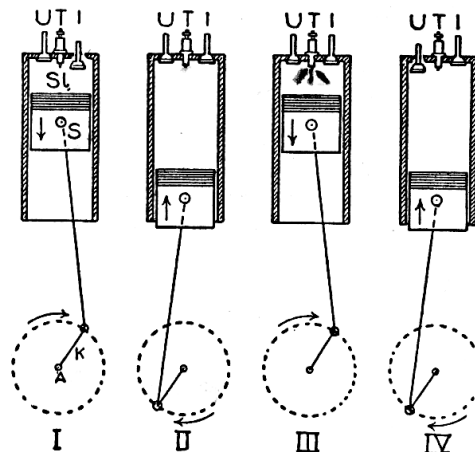
Professor Steinar Thorvaldsen
Universitetet i Tromsø

Proteiner er små molekyler som gjerne utfører spesielle oppgaver. Tusenvis av slike er til enhver tid i funksjon i hver celle i kroppen vår. Denne artikkelen skal handle om slike proteiner. Men først skal vi se litt på to mer kjente eksempler.

1. Forbrenningsmotor og tenning

Teknologiske oppfinnelser har blitt til stor hjelp for oss mennesker, og på skolene våre har vi gjerne som målsetting å gi elevene en grunnleggende innsikt i noen utvalgte teknologiske produkter. I de læreplaner som gjelder for norsk grunnskole heter dette fagområdet nå "Teknologi og design".

Den gang jeg selv var skoleelev, var det en viktig del av pensum å forstå hvordan mekaniske motorer virket. Denne oppfinnelsen hadde jo befridd mennesker for mye av det fysiske strev som ellers var dagligdags. Vi begynte med dampmaskinen, som ble fyrt opp i klasserommet. Ventilene og stempler fun-



Figur 1. Forbrenningsmotoren. Fra Bruun og Deviks lærebok, Olaf Nordlis Forlag, Oslo.

¹ Publisert i Thomas Plough (red): *Mening med tiden*. Aalborg Universitetsforlag, 2015, side 173-184.

gerte i et utmerket samspill. Deretter var det bensinmotoren, som vi bare måtte nøye oss med skjematiske tegninger av. Både to-taktsmotoren og fire-takteren (figur 1), den siste også med flere sylindere. Tenningen for hver sylinder måtte være helt presis, og her var det ikke rom for ombytte av tennpluggene til hver sylinder, noe jeg senere fikk erfare i praksis for bilmotorer. Tenningen følger ingeniørens skjema, alt annet fungerer elendig, ja det kan ende i motorhavari. Til sist var det dieselmotoren vi lærte om.

2. Datamaskin og klokkefrekvens

Motorens funksjon er vel stort sett gått ut av grunnskolens pensum. Men datamaskiner lærer elevene en god del om. Hovedmotoren i en datamaskin kalles mikroprosessen. Hastigheten på denne måles bl.a. med klokkefrekvensen. Alle datamaskiner inneholder klokker som sender en taktfast strøm av elektriske pulser for å koordinere samspillet mellom prosessen, hukommelsen og andre enheter i systemet. Klokkefrekvensen er farten eller frekvensen til disse pulsene. Den blir uttrykt i megahertz (MHz) eller gigahertz (GHz). Den første PC jeg brukte hadde en klokkefrekvens på 8 MHz, dvs at den systemklokken flytter fram 8 millioner ganger pr sekund. Den PC der jeg skriver denne teksten har klokkefrekvens på 2,5 GHz (=2500 MHz). Desto høyere klokkefrekvens en prosessor har, jo raskere vil den arbeide, og klokkefrekvens er derfor et slags mål på yteevnen til en datamaskin.



Figur 2. Prosessor med klokkefrekvens på 2,5 GHz.

Alle små deljobber i systemet som gjøres underveis må være ferdige før systemet kan rykke frem til neste oppgave. Hvis en oppgave er uferdig, må resten av

systemet vente. Slik sørger man for at alt skjer i riktig orden og alle oppgaver får den tid de trenger. Klokker har den viktige kontrollerende og koordinerende funksjon. Uten denne koordineringen blir det garantert kaos.

3. Proteinfoldingens koordinering

I molekylærbiologien finner vi en annen type "teknologi" som er ennå hurtigere og mindre enn den klassiske datateknologien. Man kan oppfatte proteinene som små "mikroprosessorer" som fungerer innenfor et langt større operativsystem, den levende celle. Det mikrokosmos vi nå etter hvert oppdager i cellene er en fascinerende verden som reguleres av et stort antall slike proteiner og molekylære motorer. *Molekylære motorer* er en fellesbetegnelse for små biologiske systemer, som opererer ved å omdanne kjemisk energi til brukbart mekanisk arbeide, eller omvendt. Disse molekylære maskiner utfører et utall av forskjellige oppgaver i cellen slik som transport av store molekyler, kopiering av DNA og RNA eller reparasjon av DNA. Små systemer er i denne sammenheng systemer med en størrelse på rundt 2-100 nanometer (10^{-9} meter, som forkortes nm). Det er ikke lenger kontroversielt å beskrive disse systemene ved hjelp av maskinspråk, og det blir nå allment brukt i molekylærbiologien. Så lenge vi beskriver deres kapasitet til å foreta informasjonsbehandling, er de virkelige maskiner, utstyrt med den rette «software».

Som de makroskopiske maskinene har de molekylære maskiner også bevegelige deler, selv om dynamikken på molekylnivået er en god del annerledes enn den vi kjenner fra makrokosmos, og er influert av lovene for såkalte Brownske bevegelser. Brownske bevegelser er uregelmessige og ustanselige bevegelser av små partikler i en væske eller gass som skyldes kollisjoner mellom partiklene og molekylene. Grunnen til dette er den stadige bevegelsen av atomene og molekylene som alt stoff er bygd opp av. Men inne i hver levende celle er det et mastermolekyl som styrer: *DNA*. Livsformenens dynamikk er ikke et produkt av kaos, men av svært strukturerte handlinger regissert av den molekylære mastmolekylet DNA og dets proteiner.

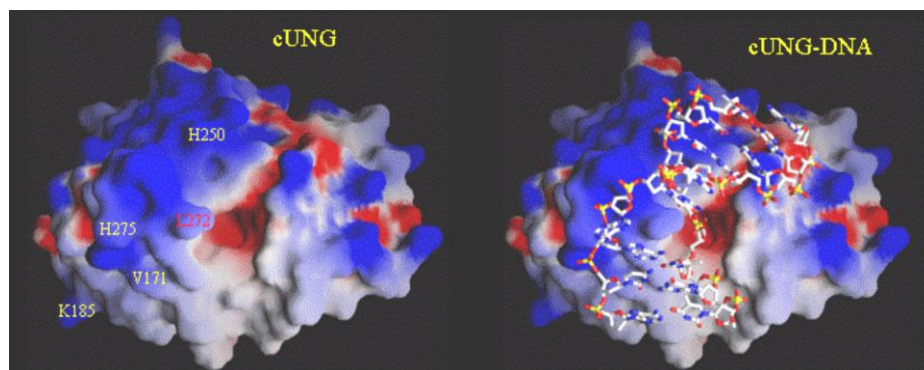
Proteinene er i sitt utgangspunkt ganske enkle og består av få basiskomponenter. Faktisk kan vi betrakte proteinalfabetet som et språk som består av bare 20 bokstaver. Dette er kjemiske forbindelser som kalles aminosyrer, og de representeres gjerne med hver sin bokstav: A, R, N, D, C, Q, E, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y, V. Det er kun bestemte versjoner av slike aminosyrer som kan brukes. Alle aminosyrer (unntatt G) finnes i minst to former

som har litt ulik kjemi da de er speilbilder av hverandre, på samme måte som høyrehånden er et speilbilde av venstrehånden. To av aminosyrene (I og T) finnes faktisk i fire ulike romlige former. Men i proteinene er det bare den ene av alle disse speilformene som finnes og fungerer. De andre versjonene er rett og slett fraværende i alle naturlige proteiner.

Et bestemt protein vil da bestå av en sekvens av slike bokstaver, for eksempel det DNA-reparerende proteinet UNG fra fisk (torsk) med identitet 1YUO i proteindatabasen PDB (www.pdb.org):

```
MEFFGESWKKHLSGEFGKPYFIKLMGFVAEERKHYTVYPPPHQ  
VFTWTQMCDIKDVKVVILGQDPYHGPNQAHGLCFSVQRPVPPP  
PSLVNIYKELSTDIEDFVHPGHGDLGWAKQGVLNNAVLTVR  
AHQANSHKERGWEQFTDAVVSWLNQNSNGLVFLWGSYAQK  
KGS AIDRRHHVLQTAHPSPLSVYRGFFGCRHFSKTNELLQKS  
GKKPIDWKEL
```

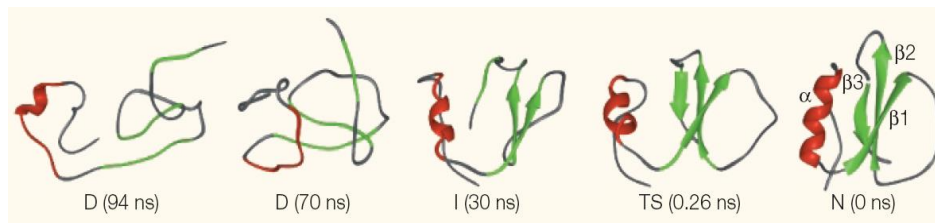
Lengden av denne sekvensen er på 223 aminosyrer. Ulike proteiner har ulik lengde, gjerne mellom 50 og 1000 aminosyrer. Så langt er alt greit. Men så begynner de store vitenskapelige utfordringene. Hver proteinsekvens kan folde seg sammen til én bestemt 3-dimensjonal struktur. Figur 3 viser foldingen av sekvensen over. Foldingen skjer lynraskt, og den er konfigurert slik at ikke lokale deler av strengen låser eller sperrer av for helheten. Foldingsprosessen er koordinert mot et bestemt sluttresultat som gir proteinet sin funksjonelle struktur.



Figur 3. Proteinet UNG fra torsk i foldet tilstand. Til høyre vises bindingen til DNA-spiralen som proteinet virker på.

Noen proteiner klarer ikke å gjennomføre hele foldingsprosessen alene. De er da avhengige av hjelpemolekyler, som kalles chaperoner, for å nå sin naturlige foldingsstruktur. Chaperonene assisterer hovedmolekylet i foldingsprosessen. Noen av chaperonene forhindrer også at deler av proteinstrengen binder seg sammen på feilaktig måte slik at proteinet aldri oppnår sin egentlige biologiske funksjon.

Strukturen av et protein er bestemt av aminosyresekvensen og det aktuelle miljøet. Selve foldingen skjer kun ved hjelp av kjente kjemiske krefter, men det har allikevel vist seg uhyre vanskelig å beregne hvordan en gitt aminosyresekvens vil folde seg. Dette er et av de største uløste problemene i dagens biologi. En god del strukturer har det vært mulig å finne ved å bruke røntgenbestråling eller spektroskopi, selv om disse metodene er både dyre og vanskelige. I praksis bruker vi de kjente proteinstrukturer som prototyper når vi skal forutsi et sluttresultat. Men mangler vi en egnet prototype, vet vi ikke hvordan sluttresultatet vil bli.



Figur 4. Figuren viser øyeblikksbilder av Chymotrypsin inhibitor 2 i en simulert utfoldingsprosess (Daggett & Fersh 2003). Dette proteinet har en lengde på 64 aminosyrer. Bildene vises i reversert tid, der D er to av de mange mulige Denaturerte (utfoldete) tilstander og N er den Naturlige tilstand. De mellomliggende tilstandene er ikke mulig å registrere eksperimentelt, men er framkommet ved simuleringsstudier. Tidspunkter er angitt i parenteser, der 1 ns (nanosekund) er 10^{-9} sekund.

Selvfølgelig er det ikke alle tenkelige aminosyresekvenser som vil folde seg sammen i det hele tatt. Enkle modellstudier antyder at mindre enn 2% av tilfeldige aminosyrestrenger vil danne noen fast 3-dimensjonal struktur. For naturlige proteiner er også energiforskjellen mellom sekvensiell og foldet tilstand veldig liten, så foldingen skjer på grunnlag av god innebygd koordinering. Slik er proteinet et svært koordinert system, der tilstanden endres simultant og mye av hemmeligheten ligger i den interne bindingskoordineringen. Denne fungerer kooperativt, noe som gjør det svært komplisert å beregne foldingsveien. Den er

også kompleks fordi den utfoldede (sekvensielle) tilstanden er heterogen og gir opphav til mange parallelle reaksjoner. Interaksjonen med vannet omkring er også avgjørende, da det er av stor betydning for stabiliteten av proteinet hvilke aminosyrer som er i kontakt med vann.

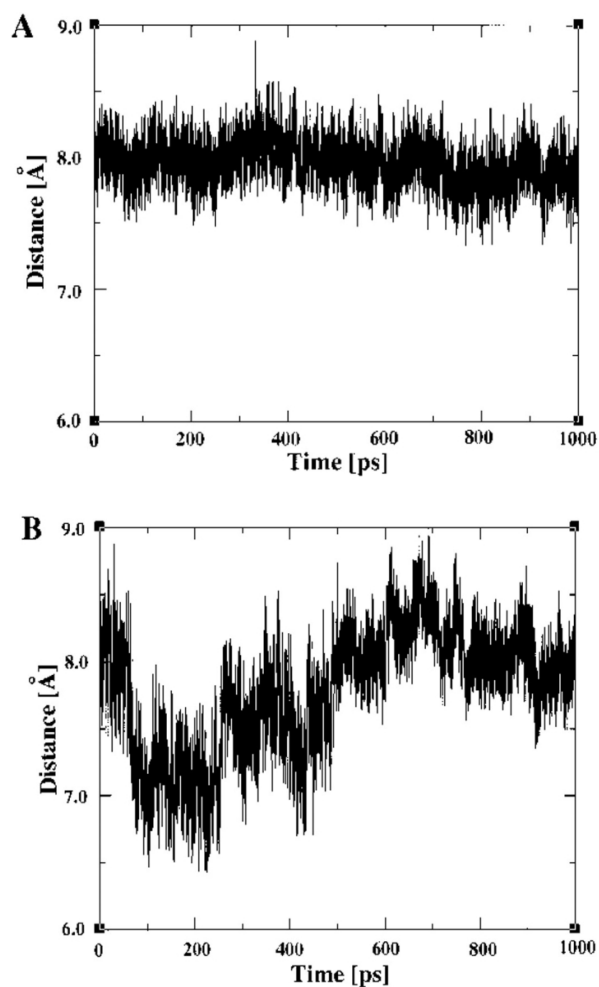
Og foldingen skjer ikke ved prøving og feiling, fordi: "Hvis et protein skulle foldes ved å teste alle mulige konformasjoner ville prosessen ta lengre tid enn alderen på universet" (Levinthal 1969). Naturen gir oss imidlertid et entydig resultat i løpet av noe slikt som 0,1-1 mikrosekunder (10^{-6} sek)!

4. Proteindynamikk i rytme

Det viser seg at en gitt folding kan realiseres av litt ulike aminosyresekvenser. Ofte har de ulike versjonene litt forskjellige kjemiske egenskaper, noen fungerer i bakterier, noen i fisker, og noen i dyr. De som har basalfunksjoner finnes i alle livsformer, på samme måte som operativsystemet i en datamaskin benyttes av alle andre programmer. Den viktigste delen av proteinet kalles det aktive setet, og aminosyrene i dette setet er alltid de samme. Dette bindingssetet er gjerne formet som en lomme og gjenkjenner substratet som proteinet skal virke på. Proteinene må i tillegg også fungere sammen med de andre proteinene som finnes og uttrykkes i organismen.

Man kan nå tenke seg at det ikke har så stor betydning hva for aminosyre som er på steder langt fra det aktive setet. Delene på baksiden er vel uten avgjørende betydning? For å studere dette har man gjort mutasjonsstudier der man har skiftet ut én eller noen få aminosyrer i det naturlige proteinet. Ota og Agard (2001) endret proteinet de studerte på ett sted i posisjon 190, der aminosyren M ble erstattet med aminosyren A (M190A mutant). Det er vanlig å bruke A som erstatning da aminosyre A gjerne benevnes som "default" blant aminosyrene. Ved denne mutasjonen oppdaget de at det aktive bindingssetet fungerte dårlig. Sammenhengen viste seg å være slik at bindingssetets geometriske konfigurasjon nå varierte med tiden, og dermed fikk proteinet problemer med å binde seg til det spesifikke stoffet det skulle virke på, se figur 5. Grepet ble mer famlende. I det naturlige proteinet beveget veggene i bindingssetet seg i en finstemt takt, slik at lommens størrelse forble fast og kun det spesifikke substratet ble gjenkjent og bundet.

Hele proteinstrukturen utgjør et fundament for det aktive setet, og det naturlige proteinet er kalibrert slik at de essensielle delene svinger i "tandem". Det er konfigurert for å pulsere rytmisk og dermed kunne utføre sin spesifikke funksjon med høy presisjon.



Figur 5. Figuren viser simulert avstanden i Ångstrøm (10^{-10} meter) mellom veggene i lommen for bindingssetet (Ota & Agard 2001). Del A av figuren er for det naturlige proteinet, og B er for mutanten M190A, der avstandene varierer og er urytmisk. Tidsangivelsen er her i picosekunder (10^{-12} sek), som tilsvarer 1000 GHz eller 1 terahertz (1THz).

Disse eksemplene viser at tiden kan en fundamental rolle innen ulike teknologier, både den menneskeskapte teknologi, og den biologiske ”nanoteknologi”. Tiden er innebygd i systemene på en meningsfylt måte. Det er *mening med tiden*.

5. Frasers hierarkiske nivåer av tid

Eksempelene over kan relateres til J.T. Frasers teori om ulike nivåer av tid (Fraser 1982, spesielt s. 29-31). Denne teorien sier noe om hvordan tiden manifesterer seg i fysikken spesielt og naturvitenskapen generelt. Fraser skiller mellom fem ulike nivåer av tid, se Tabell 1.

Tabell 1: Frasers fem hierarkiske nivåer av tid (Fra Michon 1986, s. 54).

Level of temporality	Temporal judgment
1. Atemporality	simultaneity
2. Prototemporality	order (partial/complete)
3. Eotemporality	duration (distance)
4. Biotemporality	now, timing
5. Nootemporality	(personal) history (beginnings/endings)

Det første nivået kaller han *atemporalitet* (uten tid), og karakteriseres ved fravær av tid som en meningsfull egenskap. Det svarer til forestillingen om kaos der forholdet mellom hendelser bare kan karakteriseres ved at de eksisterer samtidig eller ikke. Bare på neste nivå, *prototemporalitet*, kan den tidsmessige orden mellom hendelser spesifiseres probabilistisk som før eller etter. En deterministisk *eotemporalitet* er neste nivå i hierarkiet, det er tiden slik den representeres i fysikernes ligninger. Med andre ord er eotemporalitet den Newtonske tid slik den brukes i klassisk mekanikk; dvs. den er metrisk og reversibel. Den er uten foretrukket retning. Selv om det er mulig å definere et nullpunkt, t_0 , i klassisk mekanikk, så er dette punktet vilkårlig og representerer ikke et privilegert nu. Nåtid opptrer først på det fjerde nivå, det *biotemporale*, som også gir tiden retning. For at et en nåtid skal eksistere, er muligheten for selv-organisering en forutsetning. Den biologiske organismen, eller systemet, må på en eller annen måte være i stand til å framvise organisert aktivitet basert på en rimelig nøyaktig beregning av hva som kommer til å skje. Dette gjøres på bakgrunn av en internalisert modell av den gitte omverden. Det fysiologiske nu representerer den nødvendige «tuning» eller koordinering mellom hendelsessekvensene i den eksterne omverden, og de i den simulerte indre verden. Biotemporalitet karakteriseres ellers av å være irreversibel i tid, selv om den kan være veldig vag når det gjelder begynnelse og slutt. Som siste nivå i Frasers hierarkiske teori kommer *Nootemporaliteten*, som er den unike form for tid knyttet til menneskets bevissthet.

I første del av denne artikkelen så vi på fire systemer, to fra ingeniørvitenskapen og to fra mikrobiologien. På hvilket av Frasers nivåer kan

disse plasseres? Siden prosessene i den observerbare verden i hvert tilfelle var nøye koordinert med tiden, er alle eksemplene *biotemporale*. Systemene inkluderer tiden i sin funksjonelle og internaliserte modell av den gitte omverden.

Denne observasjon gjør at vi kan komme med en formodning: Et system som inkluderer Frasers biotemporale tid er et intelligent design. Med *intelligent design* mener vi da et helhetlig system, eller en egenskap ved et system, som kan forklares best ved en intelligent årsak, og ikke som følge av tilfeldige prosesser. Slike systemer har altså en rasjonell timing og er konfigurert på en fornuftig måte. Det er en strukturerende relasjon mellom de ulike delene av det fysiske systemet. Diskusjonen om intelligent design som fruktbart begrep innen naturvitenskapen har vært en intens grunnlagsdebatt innen biovitenskapene de siste årene, og ett av problemene har vært å gi begrepet en operasjonell definisjon. Her kan tidsbegrepet ha en nøkkelrolle.

I de fire eksemplene vi omtaler, er det også tale om formål, og et interessant spørsmål er om formål kan tenkes uten nootemporalitet?

6. Nanoteknologi

En av de overraskende oppdagelsene i den moderne biologien har vært at biologisk informasjon er organisert på en måte som ligner vanlig tekst, samtidig som at cellen opererer på en måte som ligner moderne teknologi. Ord og begreper som «kode», «språk», «informasjon» og «motor» har vist seg svært nyttige for å beskrive og forstå den molekylære biologi (Kay 2000). Ordet *nanoteknologi* brukes i dag også som benevnelse på et nytt spennende forskningsområde der det bevisst arbeides med atomer, molekyler og systemer med nanometer (nm) dimensjoner.

Man har nærmet seg nanoteknologien fra to kanter; enten ovenfra, ved å ta utgangspunkt i klassiske, makroskopiske modeller, eller nedenfra, ved å ta utgangspunkt i molekylær biologi og kjemi for så å bygge strukturene større og gjerne noe modifisert. Biologien blir i denne sammenheng en stor inspirasjonskilde for teknologene. Nanoteknologien er et forskningsområde der vi kan lære av naturen og selv prøve å bygge nytt i dens bilde.

Visjonen om å kunne lage molekylære motorer ble lansert av Richard Feynman allerede i 1959 i hans berømte foredrag: *There's Plenty of Room at the Bottom*. Livets nano-motorer danner da grunnlag for det som kan kalles revers ingeniørkunst (reverse engineering), der man plukker disse naturgitte maskinene fra hverandre for å lære hvordan de er bygd opp. Som vi har sett er de molekylære

motorer nanomaskiner. En nanomaskin er en kompleks og presis mikroskopisk maskin som ellers oppfyller de vanlige karakteristika for en maskin. Det åpner seg derfor spennende perspektiver for anvendelser av disse kunnskaper fra naturen innen teknologi og medisin, men fortsatt er det meste innen nanoteknologi på idéstadiet. Et eksempel på denne forskningen er *vannrensing* ved hjelp av den samme metoden som aquaporinene i cellen. I tillegg har vi forskningsområdet for *kunstig fotosyntese*. Kunstig fotosyntese er et forsøk på å imitere naturen ved å bruke solenergi til å lage kjemisk energi, enten ved fotokjemisk produksjon ved å spalte vann til hydrogen, eller som i plantene ved binding av vann og karbondioksid til sukker. Alt dette er store og meget krevende forskningsprosjekter som fortsatt venter på sitt svar. At tidskalibrering vil være viktig i disse prosessene ser ut til å ligge i sakens natur.

Litteratur

Daggett, V & Alan Fersh, A (2003): The present view of the mechanism of protein folding, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4, pp. 497-502.

Fraser, JT (1982): *The genesis and evolution of time: A critique of interpretation in physics*. Amherst: University of Massachusetts Press.

Kay, LE (2000): *Who Wrote the Book of Life?: A History of the Genetic Code*. Stanford University Press.

Levinthal, C (1969): *Mossbauer Spectroscopy in Biological Systems* (red. Monticello, IL, Debrunner, P, Tsibris, JCM & Munck, E), Univer. of Illinois Press, Urbana, Illinois, pp. 22-24.

Michon, JA (1986): J. T. Fraser's "Levels of Temporality" as Cognitive Representations. In: *Time, science, and society in China and the West. The study of time V*. Edited by J. T. Fraser, F.C. Haber and N. Lawrence. Amherst, MA: University of Massachusetts Press, pp. 51-66.

Ota, N & Agard, DA (2001): Enzyme specificity under dynamic control II, *Protein Science*, 10, pp. 1403-1414.