

Dansk NMR-spektroskopi har mistet en af sine pionerer

Af Malene Ringkjøbing Jensen, Institut for Struktur Biologi, Grenoble, Frankrig og D. Flemming Hansen, University College London, London, Storbritannien

Med ph.d., dr.scient., docent emeritus Jens Jørgen Leds død den 19. oktober 2020 har dansk kernemagnetisk resonansspektroskopi (NMR) mistet en af sine pionerer og Københavns Universitet en af sine mest dedikerede undervisere gennem tiden. Jens Jørgen Leds eftermæle, hans opdagelser og hans entusiasme for videnskab vil uden tvivl præge dansk og international forskning i biokemi, kemi og NMR-spektroskopi i mange år fremover.

Uddannelse

Jens Jørgen blev uddannet som civilingeniør i kemi i 1963 fra Danmarks Tekniske Højskole. Efter to års militærtjeneste (løjtnant af reserven) blev han licentiatstuderende og fik derefter sin ph.d.-grad i mikrobølgespektroskopi i 1968 under vejledning af professor Børge Bak, Københavns Universitet. Efterfølgende blev Jens Jørgen ansat som lektor ved Københavns Universitet, Kemisk Afdeling med NMR-spektroskopi som hovedfelt. I 1971 flyttede Jens Jørgen til Salt Lake City i USA i to år for at arbejde som seniorforsker i professor David M. Grants gruppe ved universitet i Utah. Det var her, han blev interesseret i paramagnetiske metal-komplekser - et forskningsfelt som kom til at præge det meste af hans lange og succesfulde forskningskarriere.

Paramagnetiske metalkomplekser

Jens Jørgens interesse for paramagnetiske metalkomplekser ledte blandt andet til udviklingen af detaljerede metoder til at analysere ^{13}C NMR-relaksationshastigheder og deres temperaturafhængigheder. Således publicerede



Jens Jørgen Led (Euromar-konferencen i 2004).
21. april 1938 - 19. oktober 2020.

han to artikler i det førende, internationale tidsskrift *Journal of American Chemical Society*, hvor han beskrev strukturen og ligevægtsdynamikken af aminosyren histidins komplekser med både nikkel (Ni^{2+}) og mangan (Mn^{2+}) ved hjælp af paramagnetisk NMR, figur 1A [1,2]. Disse to artikler, sammen med syv andre artikler, dannede senere grundlaget for Jens Jørgens doktorafhandling (dr.scient.), som han blev tildelt i februar 1988 ved Københavns Universitet.

Tidlig interesse for proteiner

I starten af 80'erne begyndte Jens Jørgen at interessere sig for proteiner, og han skrev i den forbindelse sin første artikel i Dansk Kemi omhandlende brugen af NMR-spektroskopi til at bestemme proteiners struktur og funktion [3]. Hans interesse for proteiner startede med enzymet kulsyreanhydrase, hvis funktion er at omdanne kuldioxid til kulsyre. Jens

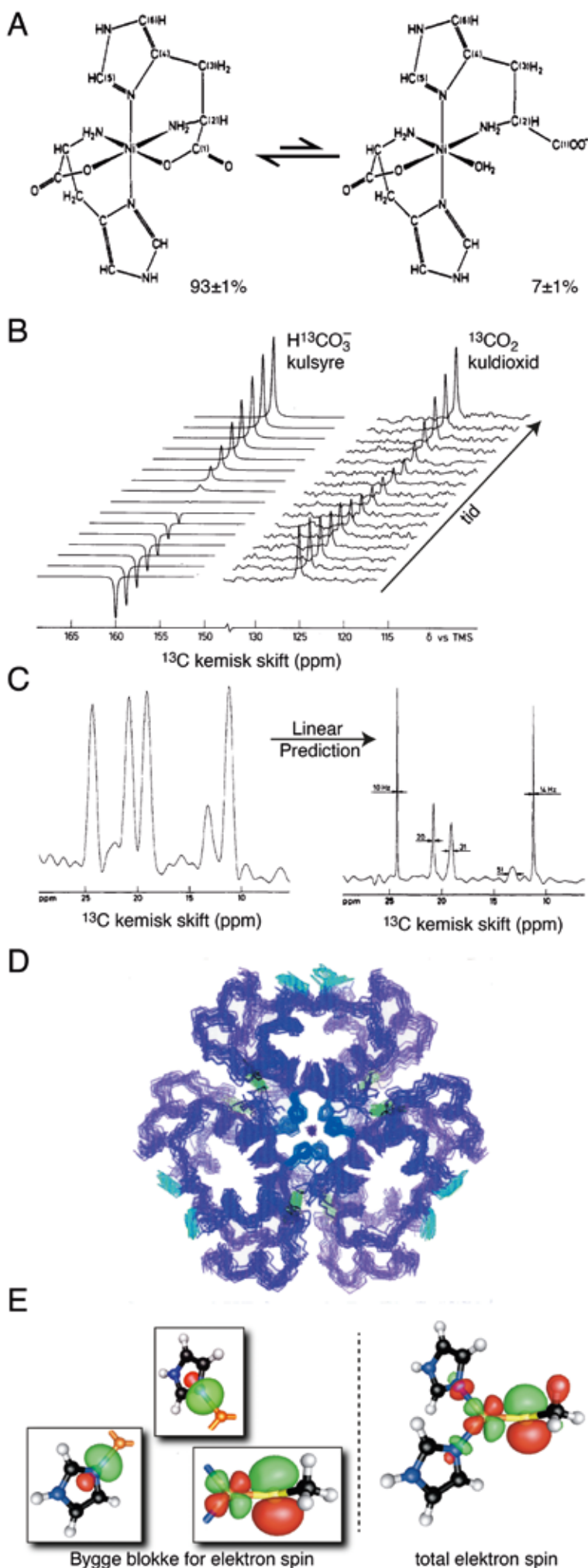
Jørgen kunne på elegant vis bestemme aktiviteten af Mn^{2+} -formen af enzymet ved at kvantificere overførelsen af ^{13}C magnetisering fra kuldioxid til kulsyre og *vice versa*, figur 1B [4]. På det tidspunkt var det endnu ikke muligt at udtrykke og oprense proteiner rekombinant fra for eksempel *E. coli*-bakterier, og kulsyreanhydrasen blev derfor oprenset direkte fra røde blodlegemer på Københavns Amtssygehus.

Udvikling af Linear Prediction (LP) metoden

Jens Jørgen lavede også helt exceptionelle bidrag til analysen af NMR-spektre, hvor han blandt andet var med til at udvikle Linear Prediction (LP) metoden, figur 1C [5]. Det var specielt ideen om at bestemme frekvenser og linjebredder fra LP-koefficienterne, der her var banebrydende. Efter frekvenser og linjebredder er bestemt for NMR-signalerne i et spektrum kan intensiteter og faser nemt blive bestemt med en mindste kvadraters analyse. Linear Prediction-metoden finder i dag sin brede anvendelse i NMR-spektroskopi, blandt andet til at øge opløsningen af komplicerede NMR-spektre, til at minimere trunkeringsartefakter, samt som et værktøj til at udvikle kunstig intelligens.

Et frugtbart samarbejde med Nordisk Gentofte

I 1986 etablerede Jens Jørgen protein NMR-gruppen på Kemisk Institut ved Københavns Universitet. Det blev startskuddet til et yderst frugtbart samarbejde med Nordisk Gentofte (senere Novo Nordisk), der samtidig støttede erhvervelsen af et 500 MHz NMR-spektrometer økonomisk. Med installationen af dette spektrometer blev det muligt for Jens Jørgens gruppe at optage multidimensionale NMR-spektre af proteiner og dermed studere deres struktur, dynamik og funktion med atomar opløsning. Over en længere årrække studerede han blandt andet insulin, hvilket kulminerede med bestemmelsen



1975

1982

1990

1997

2012

Figur 1. Oversigt over Jens Jørgen Leds vigtigste forskningsbidrag.

- (A) Udvikling af paramagnetisk NMR til at bestemme strukturen og ligevægtsdynamikken af histidins kompleks med Ni²⁺. Populationerne af de to komplekser er angivet.
- (B) Overførelse af ¹³C magnetisering mellem kuldioxid og kulsyre til bestemmelse af aktiviteten af enzymet kulsyreanhydrase.
- (C) Udvikling af Linear Prediction til at opnå høj opløsning i den indirekte dimension af et 2D ¹³C-¹H NMR-spektrum af B9(Asp) insulin.
- (D) Bestemmelse af NMR-strukturen af den phenol-stabiliserede R₆ hexamer form af insulin.
- (E) Udvikling af byggeblokke for det uparrede Cu²⁺-elektron spin i proteinet plastocyanin til at bestemme præcise paramagnetiske relaxationshastigheder.

af NMR-strukturen af den phenol-stabiliserede R₆ hexamer form af insulin, figur 1D [6] og med dynamiske studier af interessante varianter af insulin med øget biologisk aktivitet [7,8].

Forskning i plastocyanin

I midten af 90'erne etablerede Jens Jørgen et samarbejde med professor Jens Ulstrup på Danmarks Tekniske Universitet med det formål at karakterisere kobber-proteinet plastocyanin på atomart niveau. Plastocyanin er et redoxprotein (Cu²⁺/Cu⁺) i fotosyntesen, hvis funktion er at overføre elektroner fra cytokrom f til fotosystem II. Jens Jørgens gruppe leverede i det følgende årti flere helt banebrydende forskningsresultater med bestemmelsen af strukturen og dynamikken af *Anabaena variabilis* plastocyanin [9-11] og udviklingen af følsomme NMR-metoder til at bestemme relaxationshastigheden af den uparrede Cu²⁺-elektron [12,13] samt hastigheden for udvekslingen af elektroner mellem to plastocyanin-molekyler [14,15]. Sidst, men ikke mindst, bestemte han strukturen af Cu²⁺-sitet i plastocyanin [16], der inkluderede en detaljeret beskrivelse af den uparrede elektrons fordeling på Cu²⁺-ionen og de nærmeste metalbundne aminosyrer, figur 1E [17,18].

En eminent formidler

Udover hans prominente forskningskarriere kommer man ikke udenom at nævne Jens Jørgens fantastiske bidrag til undervisningen på Kemisk Institut inden for fagene biofysisk kemi og NMR-spektroskopi. Hans forelæsninger og øvelseskurser var meget værdsatte af

de studerende på alle niveauer, specielt på grund af hans store entusiasme og dedikation til de enkelte fag. Han formåede at forklare selv de mest komplicerede NMR-koncepter på et niveau, der var forståeligt for alle, og han tiltrak samtidig et stort antal studerende til sin forskningsgruppe.

En stor inspiration

Jens Jørgen var en international anerkendt forsker og var samtidig en fremtrædende aktør i udviklingen af dansk NMR-spektroskopi. Han var for eksempel i en lang periode formand for "Instrument Center for NMR Spectroscopy of Biological Macromolecules". Han trak sig tilbage i 2008 fra Københavns Universitet, men han fortsatte med at være tilknyttet som docent emeritus.

Jens Jørgen har støttet, vejledt og hjulpet mange studerende inden for NMR-spektroskopien igennem de sidste fem årtier. For os, der har haft Jens Jørgen som mentor eller vejleder, vil hans entusiasme for både forskning og undervisning forblive en stor inspiration, og vi har i særdeleshed nydt godt af hans støtte og venskab.

E-mail:

Malene Ringkjøbing Jensen:
malene.ringkjobering-jensen@ibs.fr

Referencer

1. Led, J.J.; Grant, D.M. Carbon-13 Relaxation in Paramagnetic Complexes of Amino Acids. Structural and Dynamical Information on a Manganese(II) Complex of Histidine. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 6962-6970.
2. Led, J.J.; Grant, D.M. Carbon-13 Relaxation in Paramagnetic Complexes of Amino Acids. Structural and Dynamical Information on Nickel(II) Complexes of Histidine. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5845-5858.
3. Led, J.J. Kernmagnetisk Resonans Spektroskopiske Studier af Proteineres Struktur og Funktion. *Dansk Kemi* **1983**, *64*, 74-78.
4. Led, J.J.; Neesgaard, E.; Johansen, J.T. Carbon Dioxide Hydration Activity and Metal-Substrate Distances of Manganese (II) Human Carbonic Anhydrase B Determined by ¹³C Magnetization-Transfer NMR. *FEBS Lett.* **1982**, *147*, 74-80.
5. Led, J.J.; Gesmar, H. Linear Prediction Enhancement of 2D Heteronuclear Correlated Spectra of Proteins. *J. Biomol. NMR* **1991**, *1*, 237-246.
6. Chang, X.; Jørgensen, A.M.; Bardrum, P.; Led, J.J. Solution Structures of the R6 Human Insulin Hexamer. *Biochemistry* **1997**, *36*, 9409-9422.
7. Jørgensen, A.M.; Olsen, H.B.; Balschmidt, P.; Led, J.J. Solution Structure of the Supractive Monomeric Des-[Phe(B25)] Human Insulin Mutant: Elucidation of the Structural Basis for the Monomerization of Des-[Phe(B25)] Insulin and the Dimerization of Native Insulin. *J. Mol. Biol.* **1996**, *257*, 684-699.
8. Keller, D.; Clausen, R.; Josefsen, K.; Led, J.J. Flexibility and Bioactivity of Insulin: An NMR Investigation of the Solution Structure and Folding of an Unusually Flexible Human Insulin Mutant with Increased Biological Activity. *Biochemistry* **2001**, *40*, 10732-10740.
9. Badsberg, U.; Jørgensen, A.M.M.; Gesmar, H.; Led, J.J.; Hammerstad, J. M.; Jespersen, L.-L.; Ulstrup, J. Solution Structure of Reduced Plastocyanin from the Blue-Green Alga *Anabaena Variabilis*. *Biochemistry* **1996**, *35*, 7021-7031.
10. Ma, L.; Hass, M.A.S.; Vierick, N.; Kristensen, S.M.; Ulstrup, J.; Led, J.J. Backbone Dynamics of Reduced Plastocyanin from the Cyanobacterium *Anabaena Variabilis*: Regions Involved in Electron Transfer Have Enhanced Mobility. *Biochemistry* **2003**, *42*, 320-330.
11. Ma, L.; Jørgensen, A.M.M.; Sørensen, G.O.; Ulstrup, J.; Led, J.J. Elucidation of the Paramagnetic R1 Relaxation of Heteronuclei and Protons in Cu(II) Plastocyanin from *Anabaena Variabilis*. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9473-9485.
12. Ma, L.; Led, J.J. Determination by High Field NMR Spectroscopy of the Longitudinal Electron Relaxation Rate in Cu(II) Plastocyanin from *Anabaena Variabilis*. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7823-7824.
13. Jensen, M.R.; Led, J.J. Determination of the Electron Relaxation Rates in Paramagnetic Metal Complexes: Applicability of Available NMR Methods. *J. Magn. Reson.* **2004**, *167*, 169-177.
14. Ma, L.; Philipp, E.; Led, J.J. Determination of the Electron Self-Exchange Rates of Blue Copper Proteins by Super-WEFT NMR Spectroscopy. *J. Biomol. NMR* **2001**, *19*, 199-208.
15. Jensen, M.R.; Hansen, D.F.; Led, J.J. A General Method for Determining the Electron Self-Exchange Rates of Blue Copper Proteins by Longitudinal NMR Relaxation. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4093-4096.
16. Hansen, D.F.; Led, J.J. Determination of the Geometric Structure of the Metal Site in a Blue Copper Protein by Paramagnetic NMR. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103*, 1738-1743.
17. Hansen, D.F.; Led, J.J. Mapping the Electronic Structure of the Blue Copper Site in Plastocyanin by NMR Relaxation. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1247-1252.
18. Hansen, D.F.; Westler, W.M.; Kunze, M.B.A.; Markley, J.L.; Weinhold, F.; Led, J.J. Accurate Structure and Dynamics of the Metal-Site of Paramagnetic Metalloproteins from NMR Parameters Using Natural Bond Orbitals. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 4670-4682.

Villum Kann Rasmussens Årslegat til klimaforskning



Professor Jens-Christian Svenning, Aarhus Universitet og professor Ib Chorkendorff, DTU, modtager begge Villum Kann Rasmussens Årslegat til Teknisk og Naturvidenskabelig Forskning.

Der uddeles to årslegater i år i anledning af, at Villum Fonden fejrer sit 50 års-jubilæum.

Fælles for de to modtagere af årslegaterne er, at de begge har fokus på at løse nogle af verdens store klimaudfordringer.

Professor Ib Chorkendorff forsker i katalysatorer, som kan hjælpe verden til en fossilfri energiforsyning. Han modtager Villum Kann Rasmussens Årslegat på 5 millioner kroner.

Professor Jens-Christian Svenning forsker i biodiversitet og økosystemers dynamik for at afdekke, hvilke faktorer der former, truer og sikrer jordens biologiske mangfoldighed. Han modtager Villum Kann Rasmussens Årslegat på 5 millioner kroner.

KM