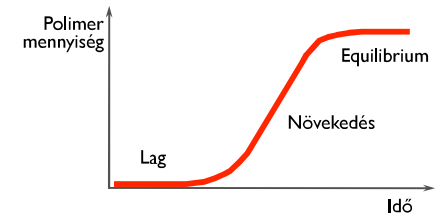


# TOVÁBBI EGYENSÚLYTÓL TÁVOLI FOLYAMATOK

POLIMERIZÁCIÓ, ÖNSZERVEZŐDÉS, ECHANOENZIMEK,  
FEHÉRJEGOMBOLYODÁS

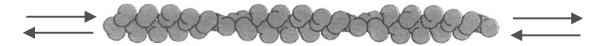
KELLERMAYER MIKLÓS

## Polimerizáció

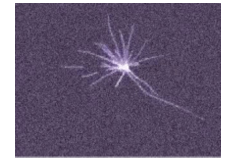


## Polimerizációs egyensúlyok

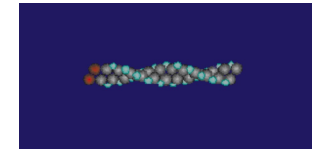
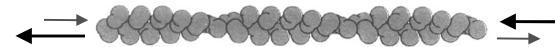
1. valódi equilibrium



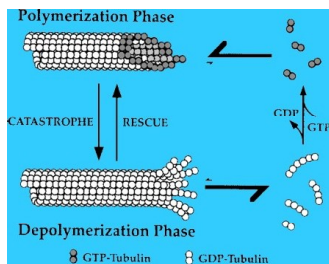
2. dinamikus instabilitás: folyamatos, lassú  
növekedést követő katasztrofikus depolimerizáció



3. Treadmilling: taposómalom

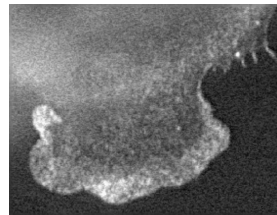


## In vivo dinamikus instabilitás Mikrotubulusok



**CHO Cytoplasm  
with  
Centrosome**

## In vivo treadmilling

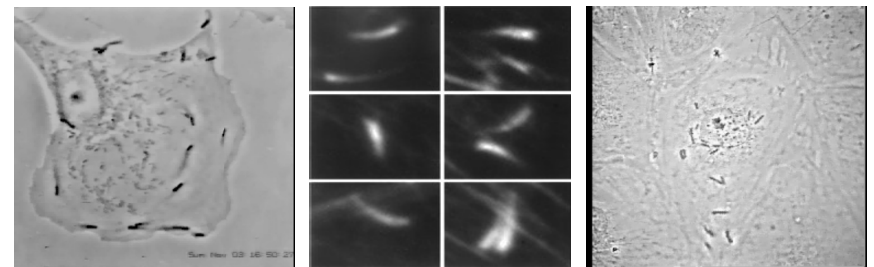


**Aktin**

GFP-aktin Speckle microscope



## Motilitás aktin polimerizációval Intracelluláris patogének mozgása



*Listeria monocytogenes*

F-aktin jelölés phalloidinnal

*Shigella flexneri*

# Motilitás aktin polimerizációval *In vitro* körülmények



*Listeria Xenopus* extraktumban



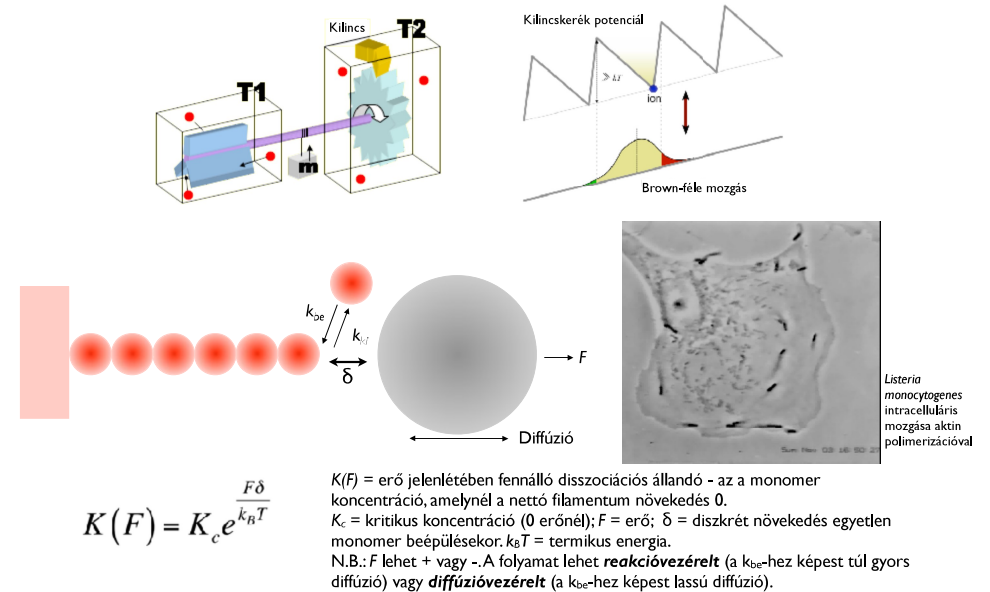
ActA-val aszimmetrikusan bevont mikrotubulus *Xenopus* extraktumban



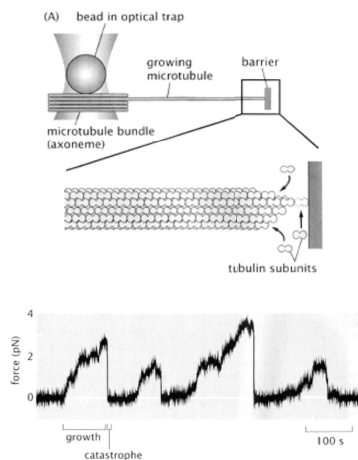
ActA-val szimmetrikusan bevont mikrotubulus *Xenopus* extraktumban

ActA: A protein expressed by the bacterium *Listeria monocytogenes* that is responsible for the "rocketing" motility of the bacterium throughout the eukaryotic host cell. In addition to other host proteins, ActA binds actin directly.

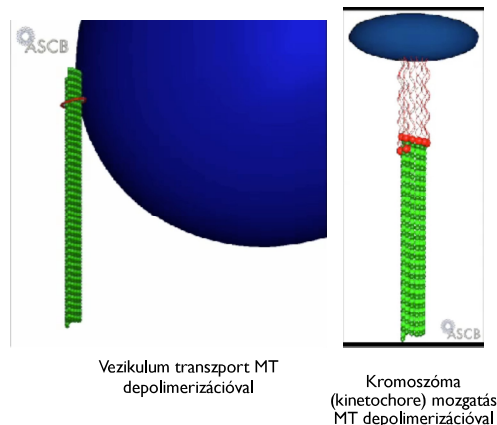
# A diffúzió speciális esete: Brown-féle kilincskerék



## Erőkifejtés polimerizációval



## Erőkifejtés depolymerizációval



# MCAK: MT-depolymerizáló kinezin

**MCAK:**

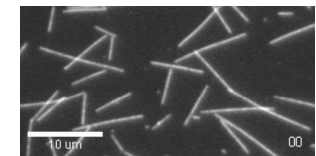
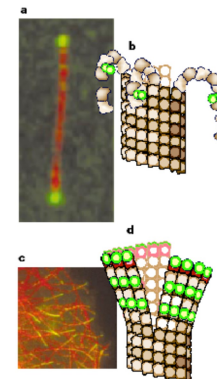
"Kinezin-13"

A MT + végéhez kötődik

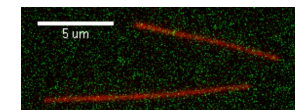
Diffúziós mechanizmussal keresi meg a + véget

ATP-t hidrolizál

MT depolymerizációt szabályoz ("katasztrófa-faktor")



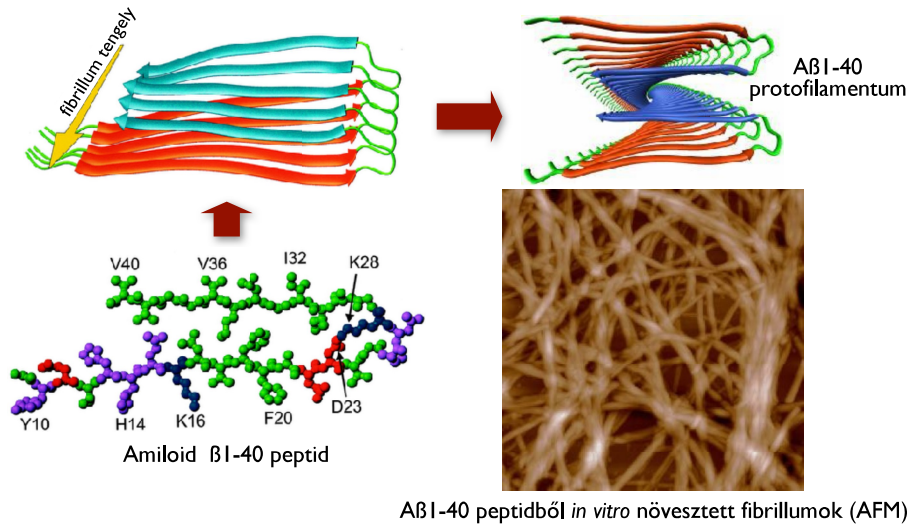
MCAK-indukált MT depolymerizáció



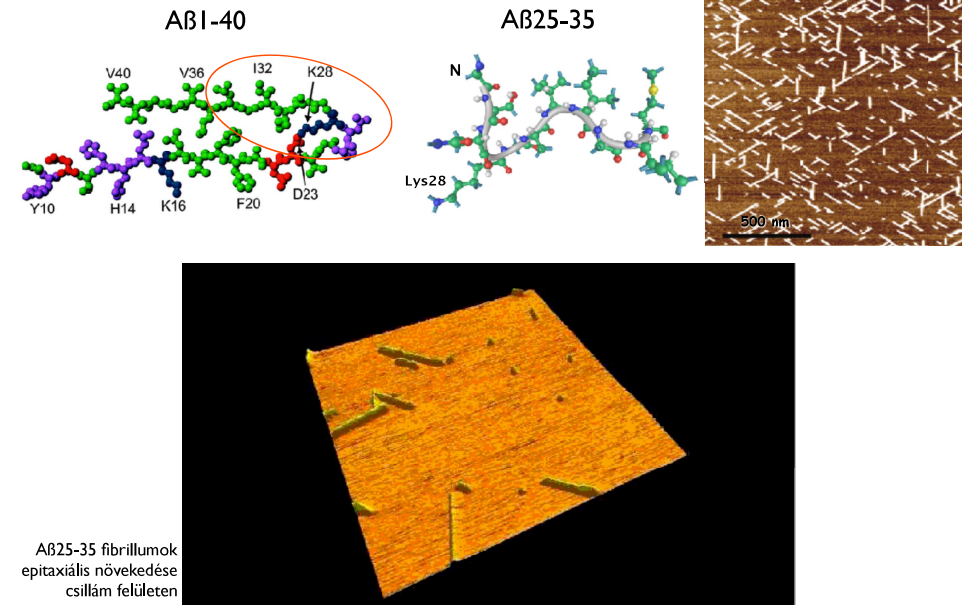
Diffúziós keresés a MT mentén (GFP-MCAK)

# Önszerveződés, vezérelt polimerizáció

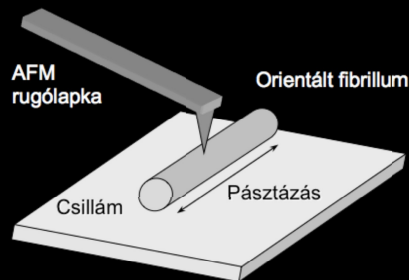
Amiloid  $\beta$ -fibrillumok: az Alzheimer plakkok fontos komponensei



## Amiloid fibrillum epitaxiális növekedése



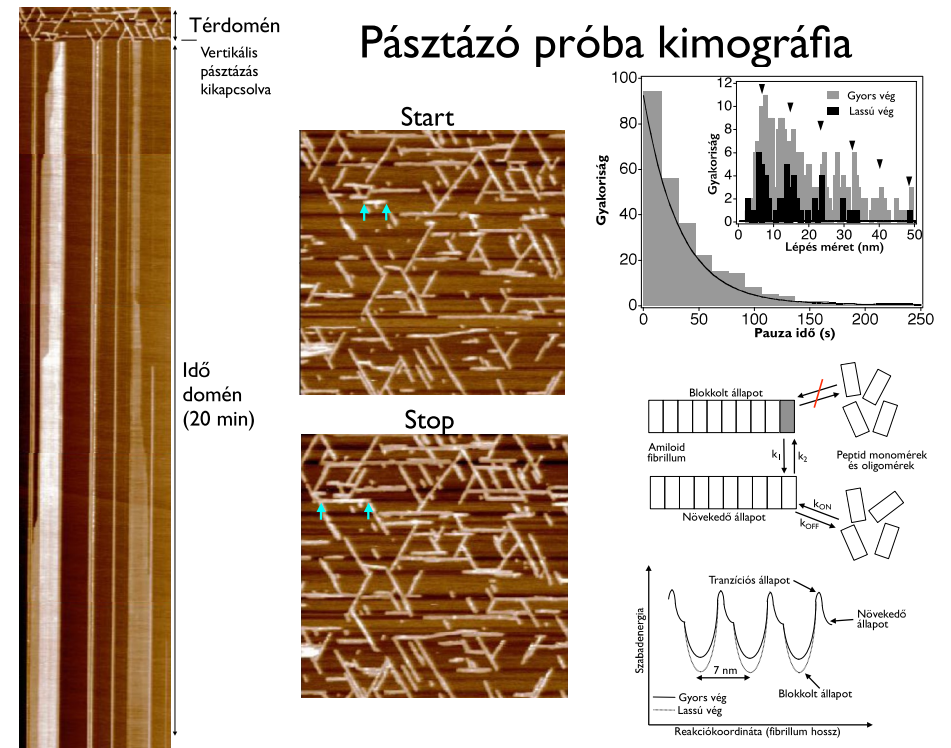
A katalizált fibrillum növekedés nano-skálájú mechanizmusa: pásztázó próba kimográfia



Térbeli felbontás: 1 nm

Időbeli felbontás: 300 ms

## Pásztázó próba kimográfia





# Motorfehérjék

1. Specifikus citoskeletális filamentumhoz kapcsolódnak (DE...)
2. Elmozdulást és erőt generálnak
3. Kémiai energiát használnak fel
4. Kémiai energiát közvetlenül alakítják mechanikai munkává (nincs közbülső hő- vagy elektromos energia)

# Motorfehérjék alaptípusai

## 1. Aktin alapú

**Miozinok:** Konvencionális (miozin II) és nem-konvencionális Miozin szupercsalád (I-XXIV osztályok). Plusz vég irányába mozognak.

## 2. Mikrotubulus alapú

**a. Dineinek:** Ciliáris (flagelláris) és citoplazmáris dineinek.

A mikrotubulus mentén a mínusz vég irányába mozognak.

**b. Kinezinek:** Kinezin szupercsalád: konvencionális és nem-konvencionális. A mikrotubulus mentén a plusz vég irányába mozognak.

**c. Dinaminok:** MT-függő GTPáz aktivitás

Biológiai szerep: vakuoláris fehérjévalogatás (pinchase enzimek)?

## 3. DNS alapú mechanoenzimek

DNS és RNS polimerázok, vírus kapszid csomagoló motor, kondenzinek  
A DNS fonal mentén haladnak és fejtenek ki erőt

## 4. Rotációs motorok

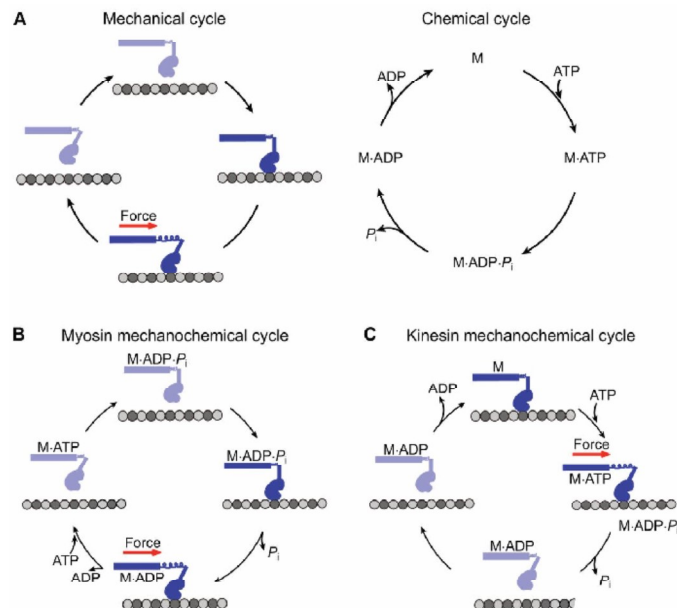
F1F0-ATP szintetáz

Bakteriális flagelláris motor

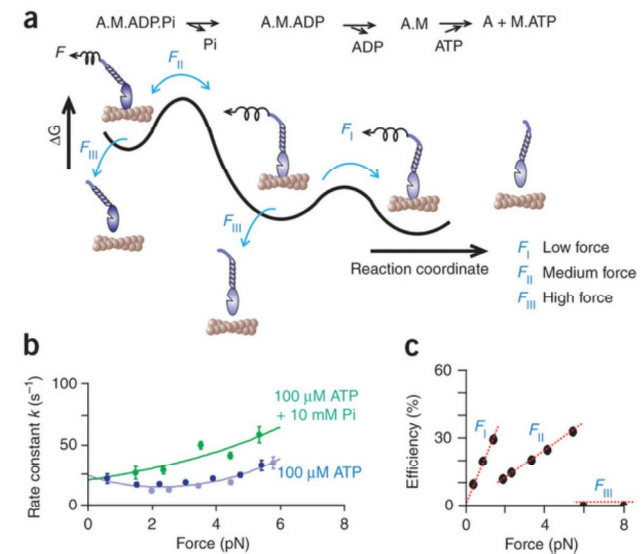
## 5. Mechanoenzim komplexek

Riboszóma

## Ciklusos működés - “duty cycle” (munkaciklus)

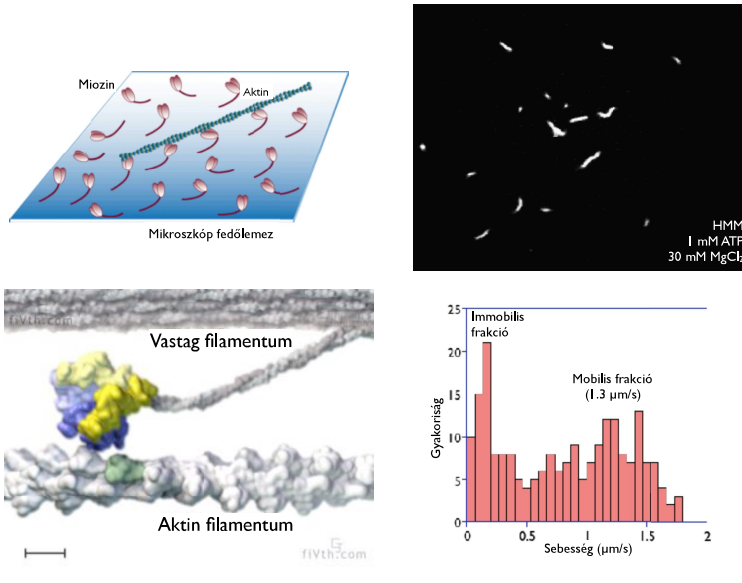


## Energetika, kinetika, mechanika

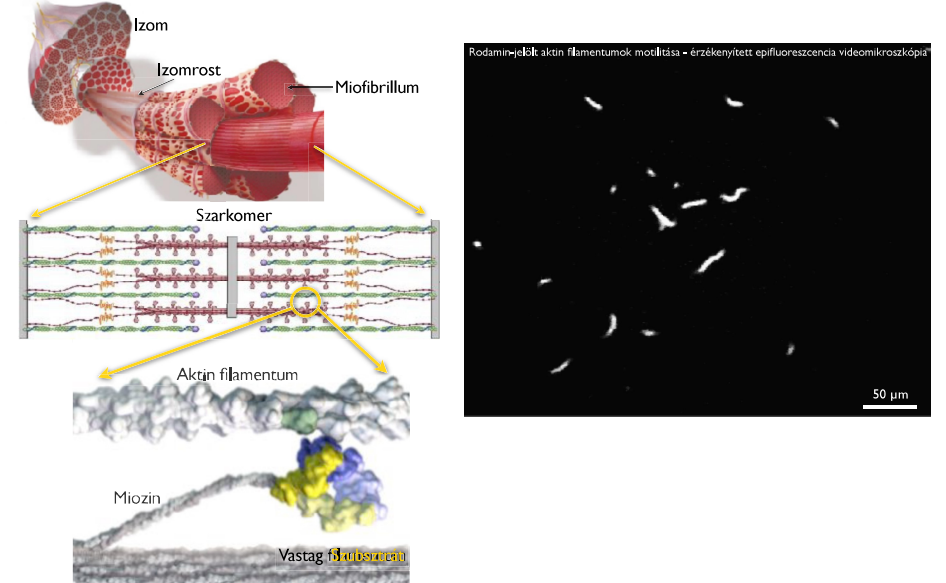




# In vitro aktomiozin motilitás

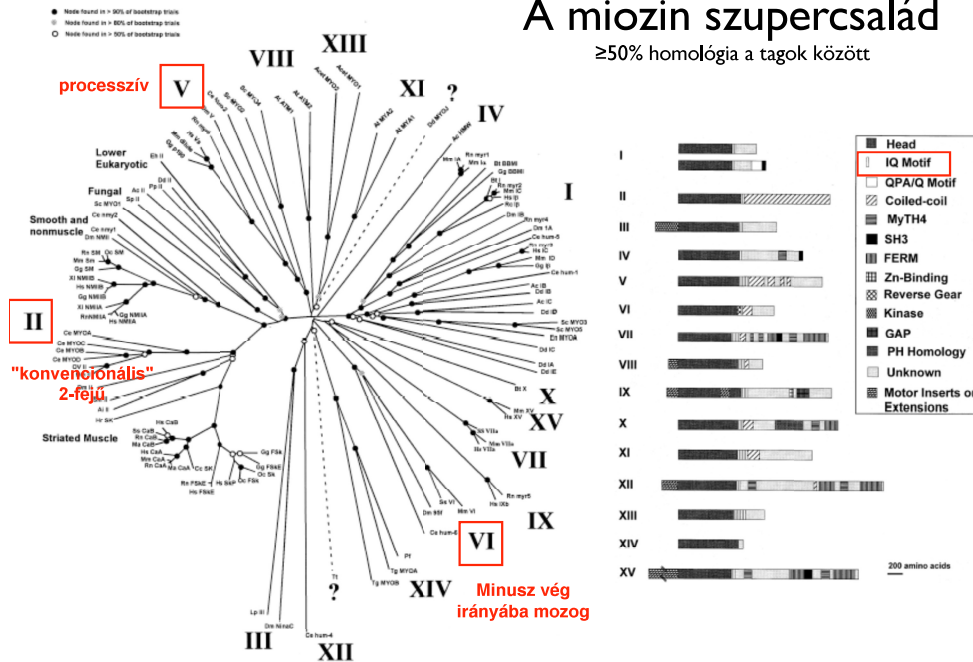


# Miozin motorfehérje

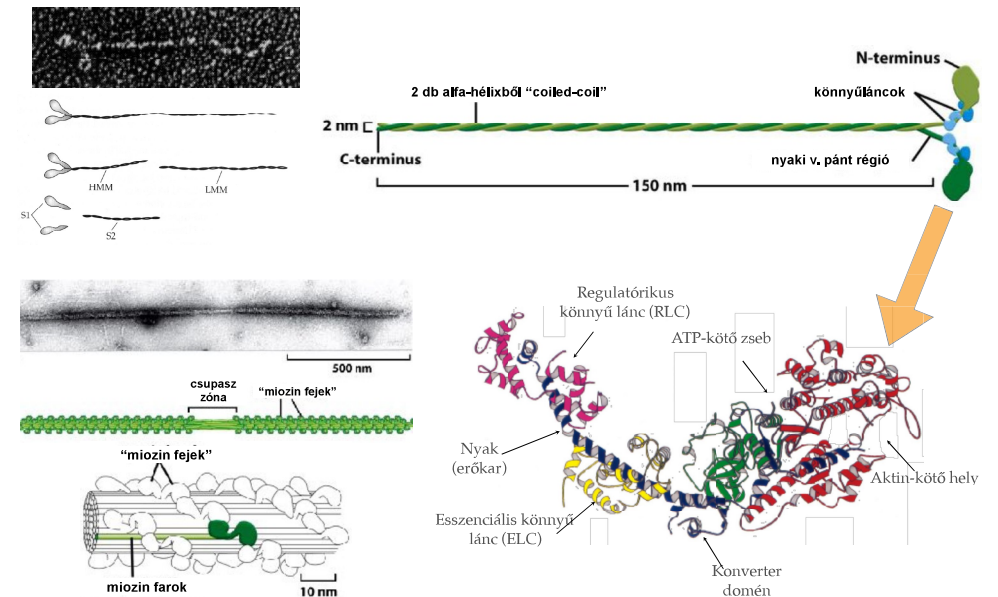


## A miozin szupercsalád

≥50% homológia a tagok között

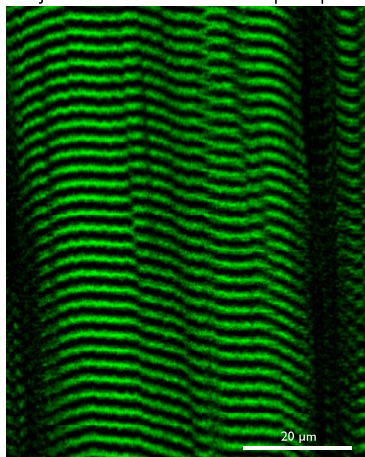


## A miozin II



# A miozin II molekulák vastag filamentumokká állnak össze

Jelöletlen izomrost 2P mikroszkópos képe

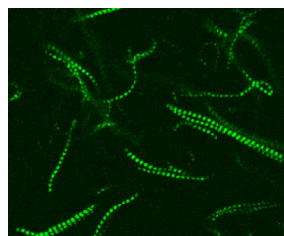


Jelforrás:  
miozin  
filamentum  
helikális  
szerkezete

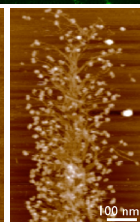
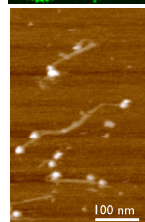
Gerjesztés:  
1000 nm

Második  
harmonikus  
generálás  
(SHG):  
500 nm

20 µm



Jelöletlen  
miofibrillumok  
2P mikroszkópos  
képe



Miozin  
molekulák és  
vastag  
filamentum  
AFM képe

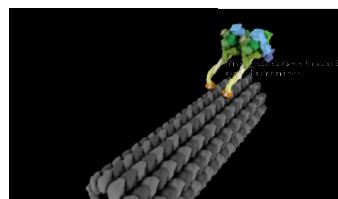
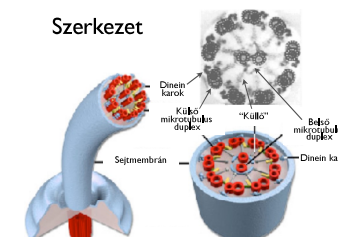
100 nm

100 nm

# Dineinek

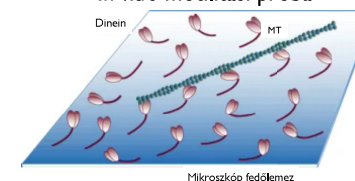
Típusok: axonemális és citoplazmáris. Sok alegységes fehérjék (Mr~500 kDa). A minusz vég irányába mozognak. Koordinált működésük meghajlítja a ciliumot.

Szerkezet



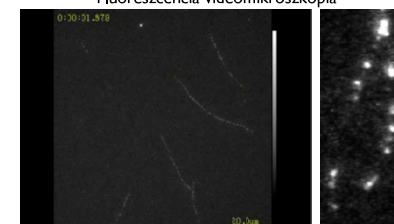
"Részeg tengerész" lépegetési  
mechanizmus

Biomolekuláris funkcionális modell:  
"In vitro motilitási próba"



Mikroszkóp fedőlemez

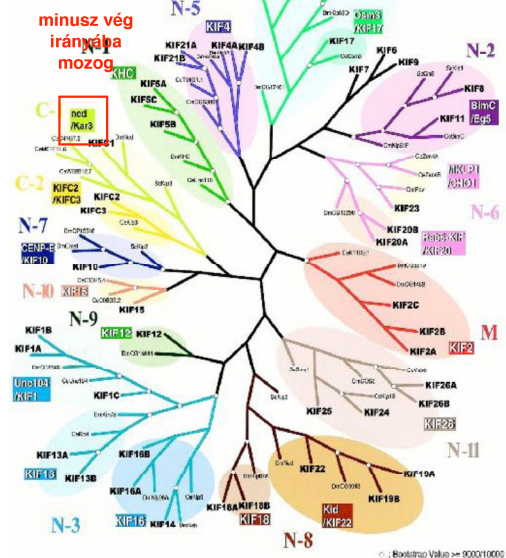
Fluoreszcencia videomikroszkópia



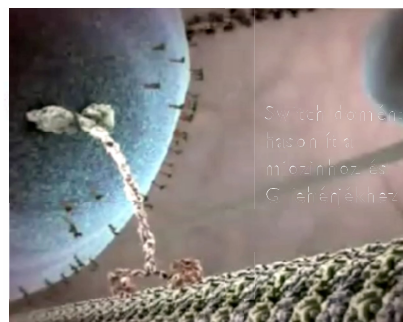
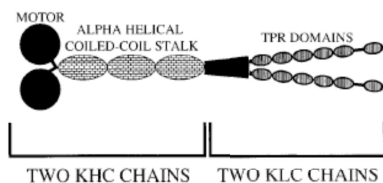
Mikrotubulus mozog a dineinen

Dinein mozog a mikrotubuluson

## The Kinesin Superfamily

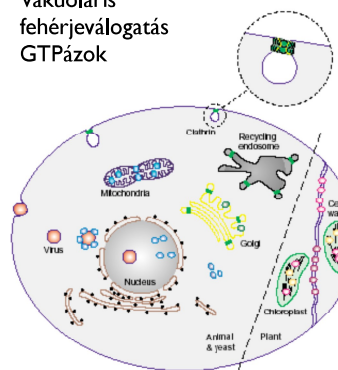


Processzív motorok.  
Plusz vég irányába mozognak.  
Vesicular transport

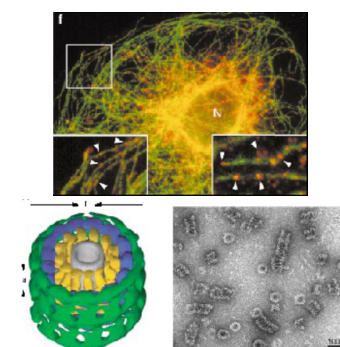


# Dinaminok

Vakuoláris  
fehérjevalogatás  
GTPázok



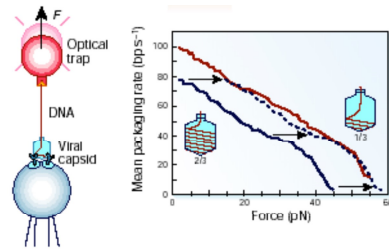
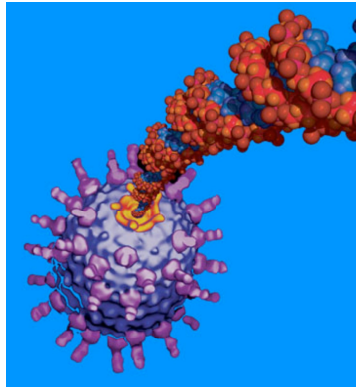
Protein	Localization	Function	Self-assembly
Dynamin	Plasma membrane (rafts), coated pits, Golgi, endosomes	Vesicle formation, fusion	+
Vps1	Plasma membrane	Vesicle formation and transport	Unknown
Drp1/Drp1GDP	Mitochondria outer membrane	Mitochondrial fission & morphology	+
Mag1/Atg18/COP1	Mitochondria inner or outer membrane, or matrix	Mitochondrial morphology	Unknown
Phragmoplastin	Cell wall	Membrane morphology	+
ACL1	Cell wall, chloroplast	Membrane biogenesis	+
ACL2	Chloroplast	Chloroplast morphology	Unknown
Vsp1	Cytoplasm	Antiviral activity	+
Mx	Cytoplasm, nucleus	Antiviral activity	+



"pinchase" funkció

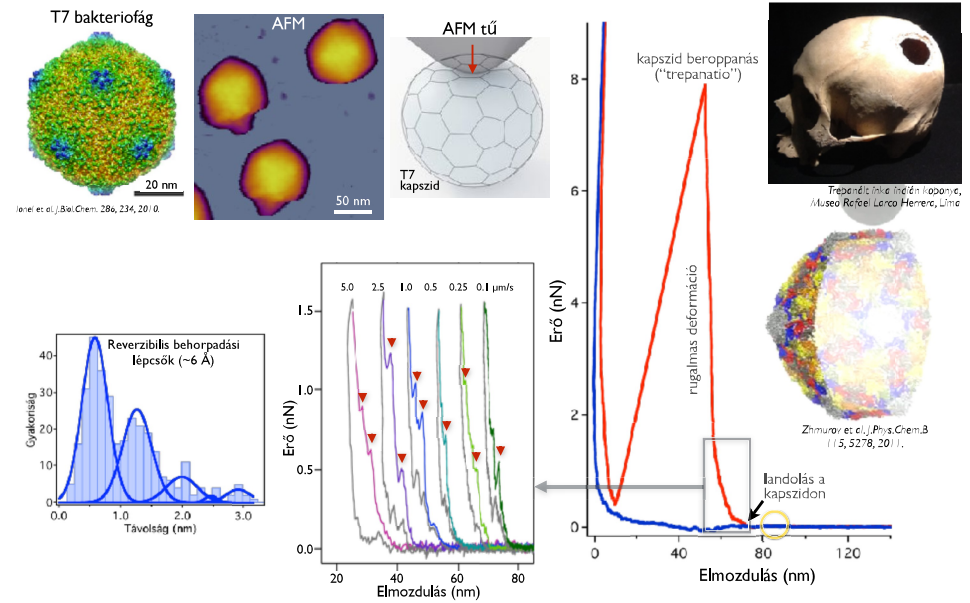


# Vírus portális motor Különleges DNS motor

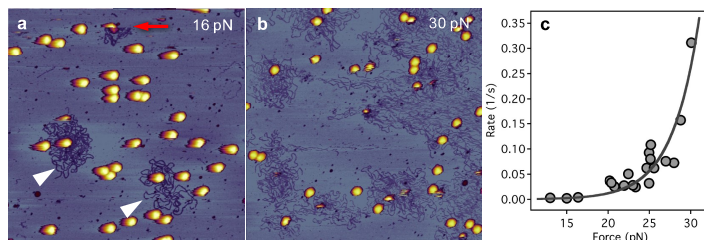
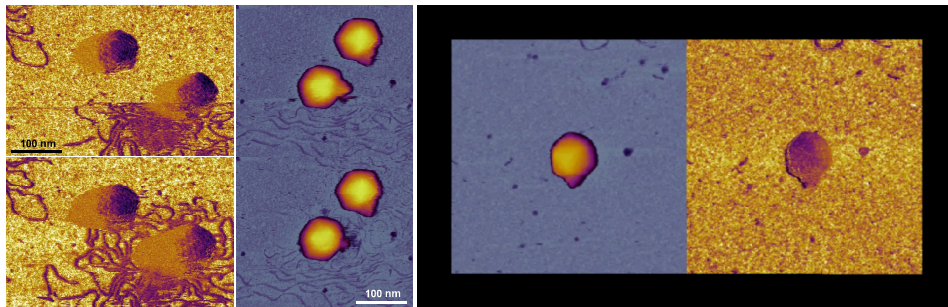


$\phi 29$  bakteriofág portális motor

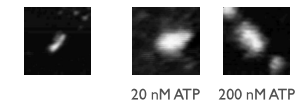
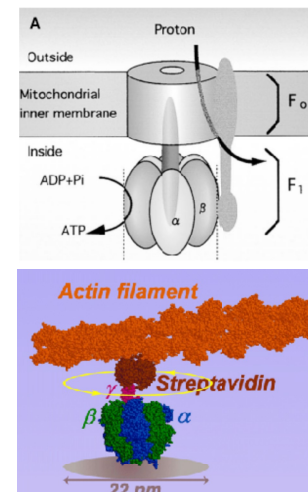
## Vírus kapszid mechanikai beroppantás - irreverzibilis folyamat



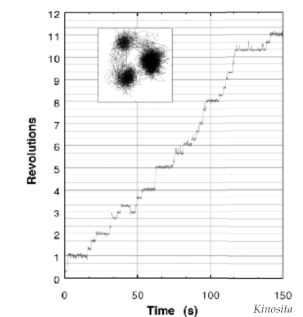
## Mechanikailag vezérelt DNS kilökődés a T7 fágból



## ROTÁCIÓS MOTOROK I: F1F0-ATP SZINTETÁZ



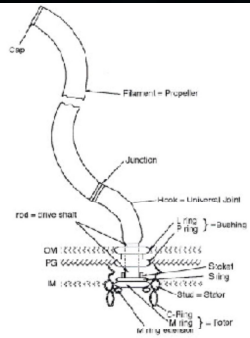
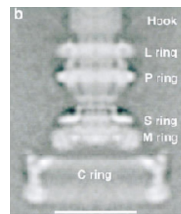
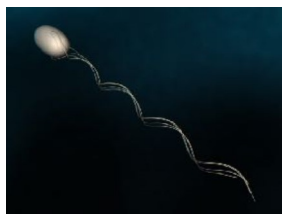
Diszkrét 120° rotációs lépések





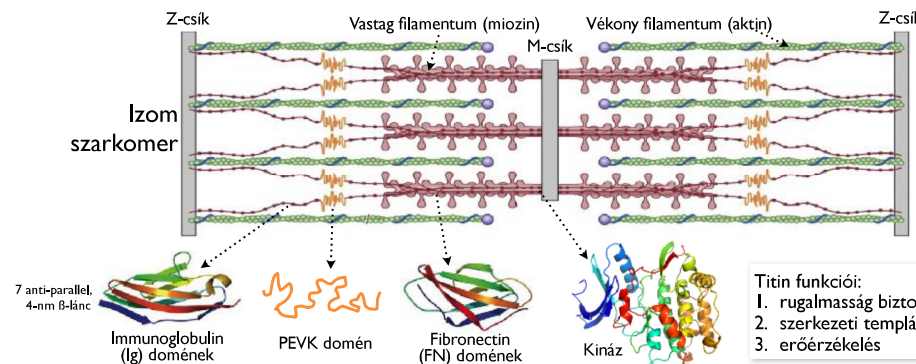
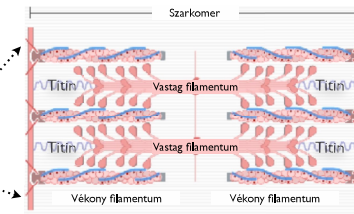
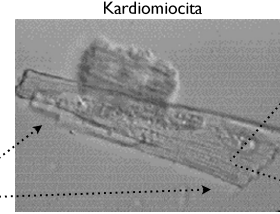
# ROTÁCIÓS MOTOROK II:

## Bakteriális flagellum motor



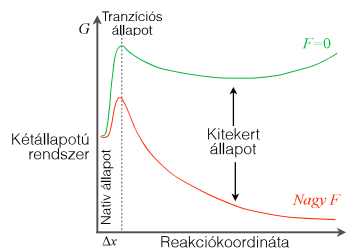
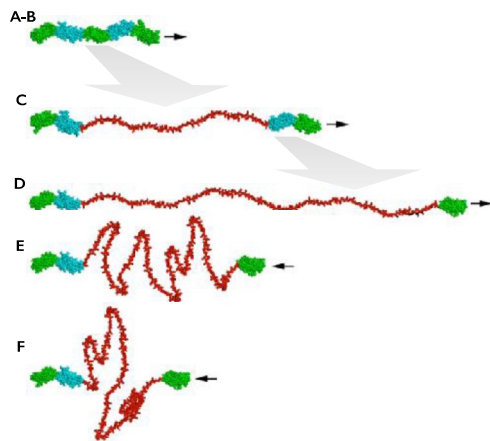
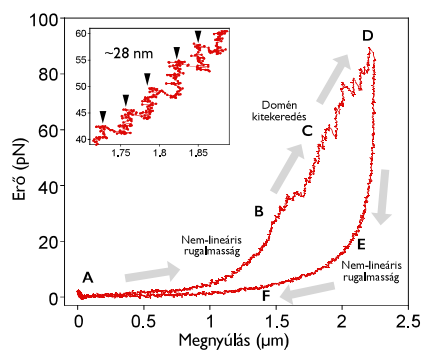
Fordulatszám: > 20000 rpm  
Fogyasztás:  $10^{-16}$  W  
Hatásfok: > 80%  
Energiaforrás: protonok

## Erővezérelt fehérjegyombolyódás: A titin óriás izomfehérje nanomanipulálása



Titin funkciói:  
1. rugalmasság biztosítása  
2. szerkezeti templát  
3. erőérzékelés

## Erőhatásra a titin kitekeredik



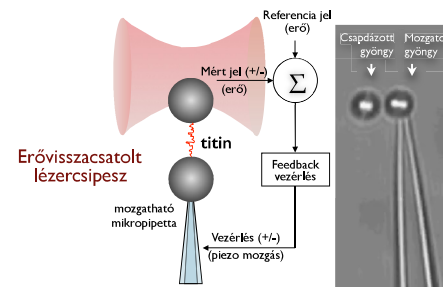
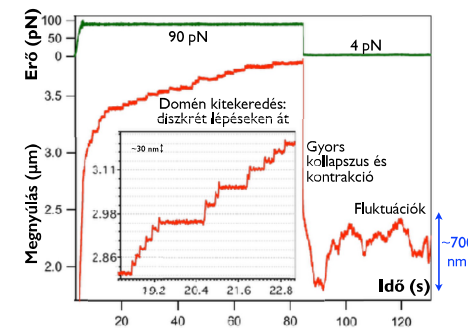
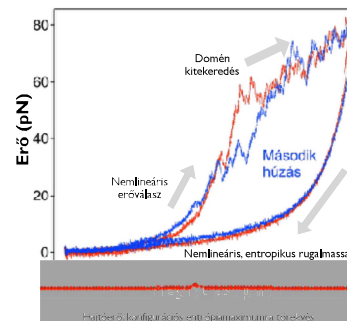
Erővezérelt domén kitekeredési sebesség:

$$k_F = k_0 e^{F\Delta x / k_B T}$$

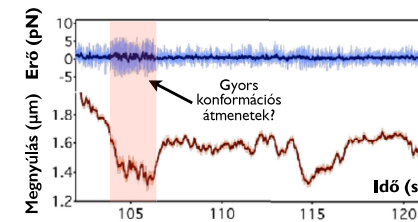
$k_0$ : spontán kitekeredési sebesség

Domén kitekeredés:  
1. minden vagy semmi elv szerint  
2. nyilvánvaló intermedier nélkül  
3. mechanikai stabilitás által diktált hierarchia szerint

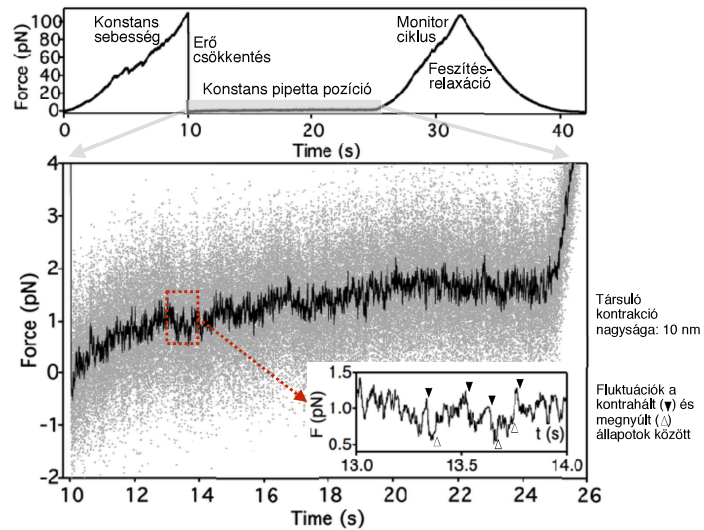
## Hogyan “kontrahál” a titin?



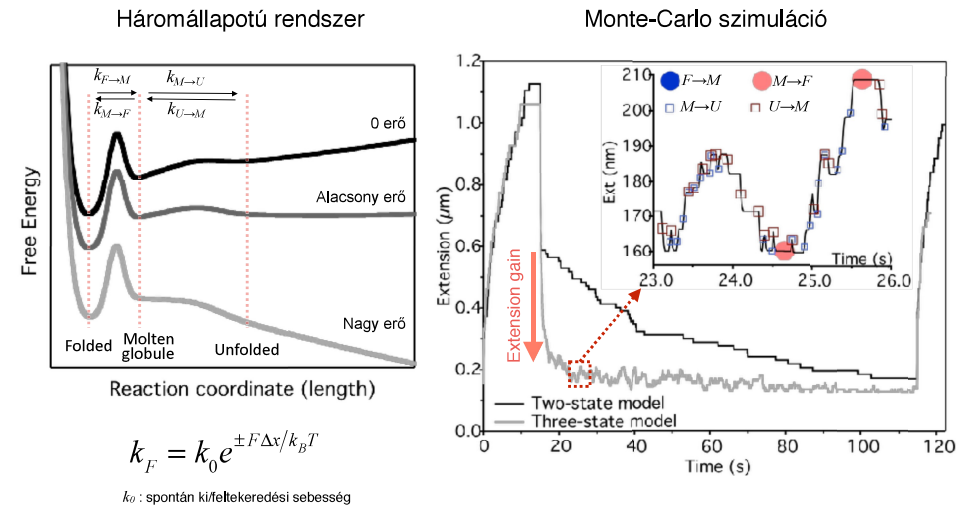
A fluktuációk nem magyarázhatók kétállapotú rendszerrel



## Gombolyodás közben a titin erőt fejleszt



## A fluktuációk megmagyarázhatók egy molten-globule (olvadt gombóc) köztes állapottal



## Mi lehet az olvadt gombóc szerkezete?

