

# Elméleti és kísérletes módszerek lipidek és membránfehérjék tanulmányozására

Hegedűs Tamás

MTA-SE Membránbiológiai Kutatócsoport  
SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

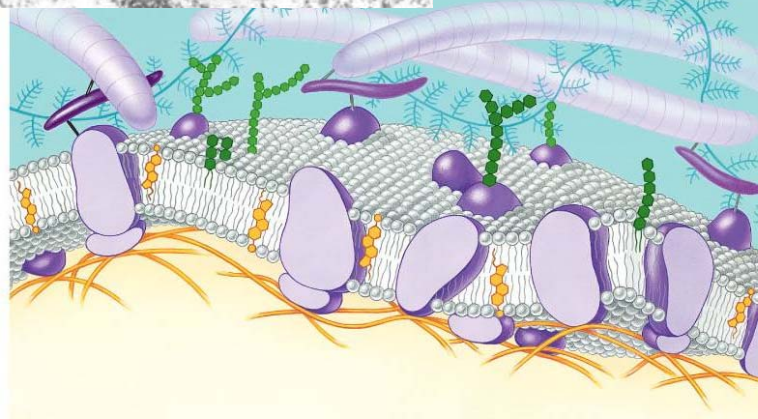
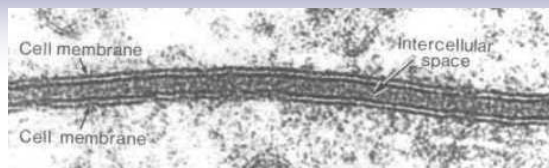


SE, Modellmembránok  
2012.04.24.

## Mai témák

- Kísérletes módszerek membránok modellezésére
- Elméleti módszerek membránok modellezésére

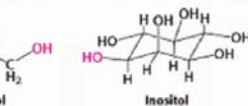
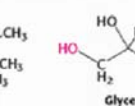
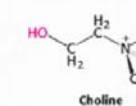
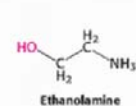
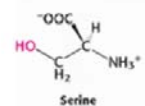
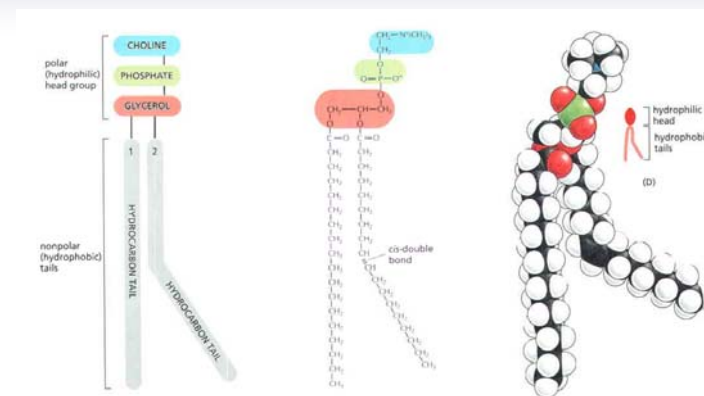
## Membránok és membránfehérjék



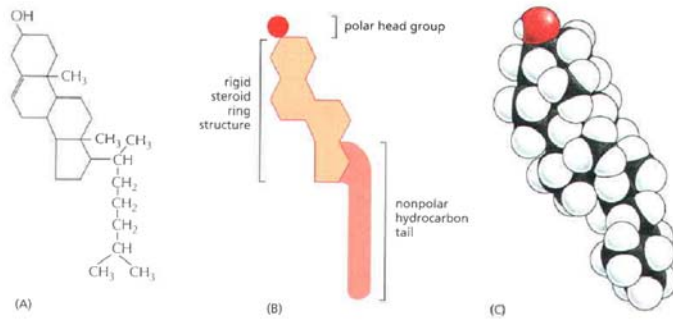
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

## Foszfolipidek

membrán-lipidek

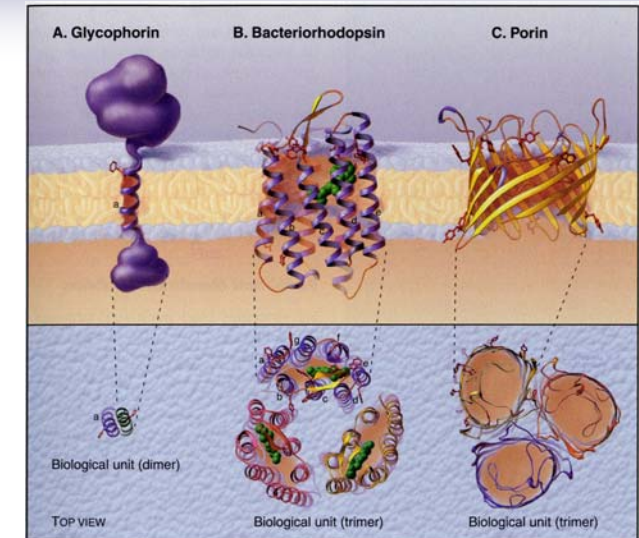


## Koleszterin - cholesterol



## Transzmembrán fehérjék

- glikoziláció
- redox környezet



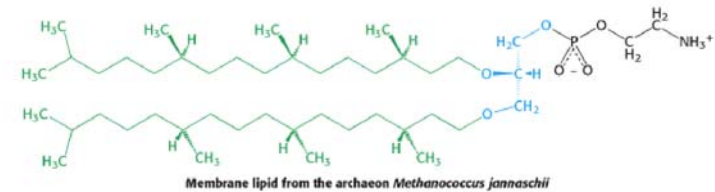
## Biológiai membránok összetétele

Lipid composition of some biological membranes<sup>a</sup>

Lipid	Percent of Total Composition in			
	Human erythrocyte plasma membrane	Human myelin	Beef heart mitochondria	<i>E. coli</i> cell membrane
Phosphatidic acid	1.5	0.5	0	0
Phosphatidylcholine	19	10	39	0
Phosphatidylethanolamine	18	20	27	65
Phosphatidylglycerol	0	0	0	18
Phosphatidylinositol	1	1	7	0
Phosphatidylserine	8.0	8.0	0.5	0
Sphingomyelin	17.5	8.5	0	0
Glycolipids	10	26	0	0
Cholesterol	25	26	3	0
Others	0	0	23.5	17

<sup>a</sup>Data from C. Tanford, *The Hydrophobic Effect* (New York: Wiley, 1973).

## Eltérő organizmusok – eltérő membrán – Archaea

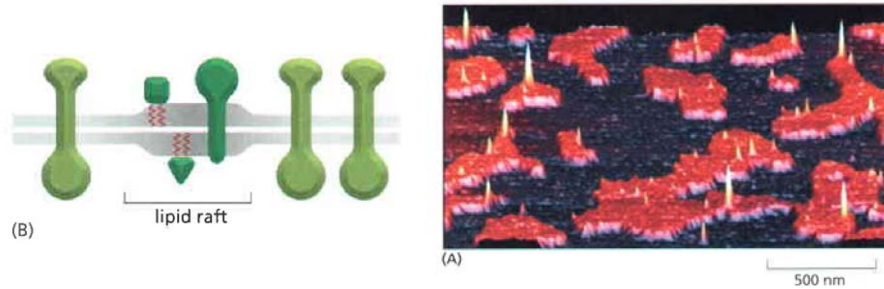


1. Éter kötés (nehezebben hidrolizálható)
2. Elágazások (nehezebben oxidálódik)
3. Glicerol szterokémiailag invertált



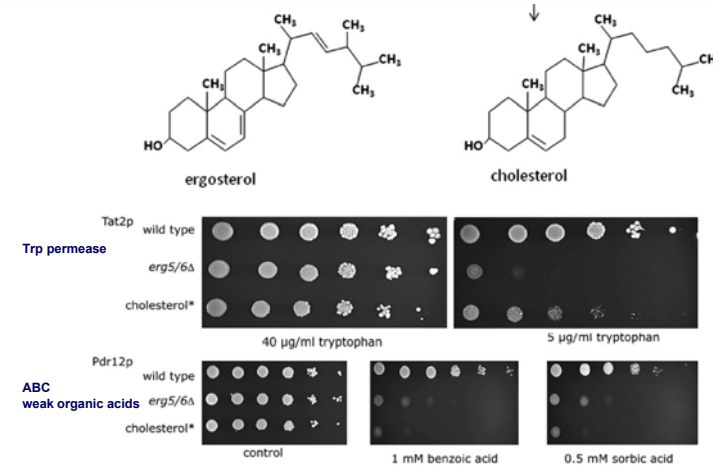
## Membrán raft

- sphingolipides
- cholesterol



## Eltérő organizmusok – eltérő membrán – élesztő

### Lipidek kofaktor-szerepe fehérjék működésében

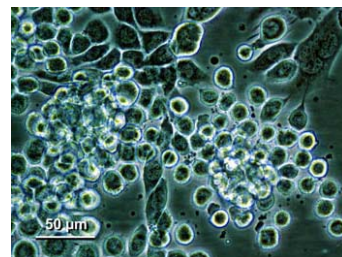


Souza, C.M., ... and H. Riezman (2011) *Metab. Eng.* 13, 555-569.

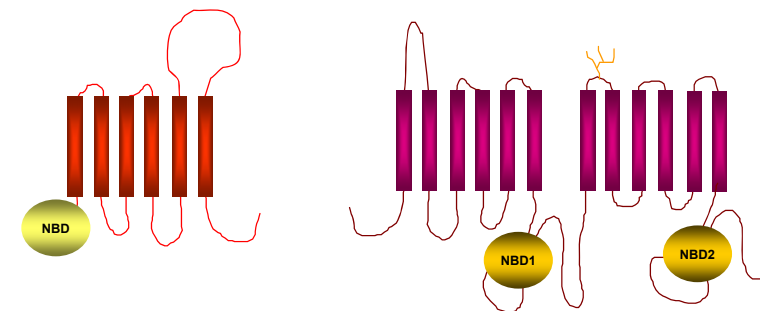
## Eltérő organizmusok – eltérő membrán – rovarsejtek

*Spodoptera frugiperda* (pl. Sf9, Sf21 sejtvonalak)

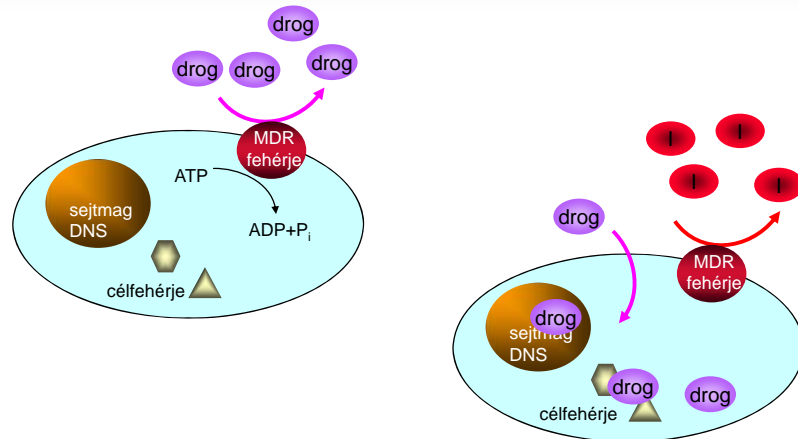
Baculo vírus



## ATP Binding Cassette (ABC) fehérjék

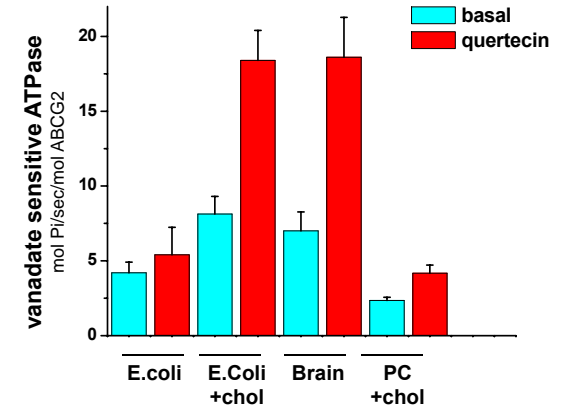
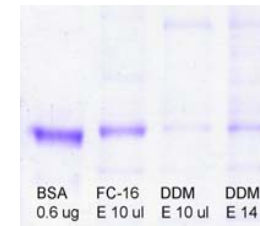
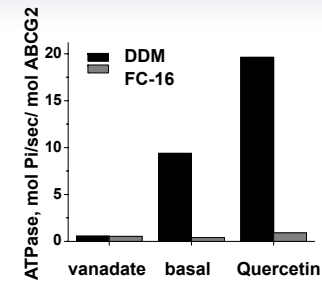


## A multidrog-rezisztencia és felfüggesztése



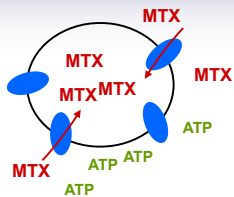
## ABCG2 koleszterin-függő működése I.

membrán preparátum

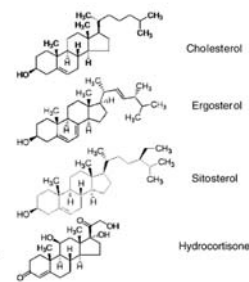
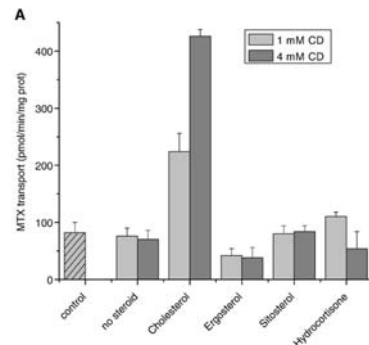


## ABCG2 koleszterin-függő működése II.

vezikula

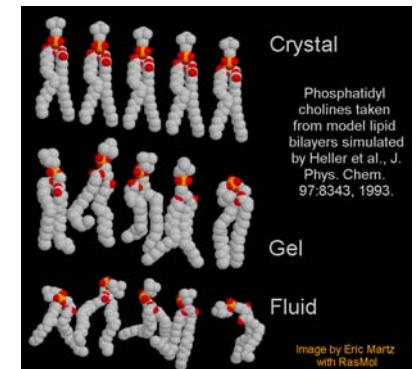
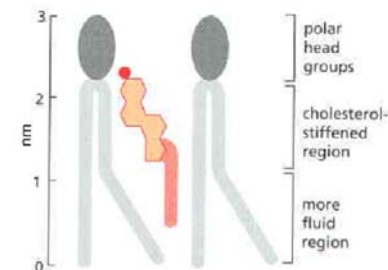
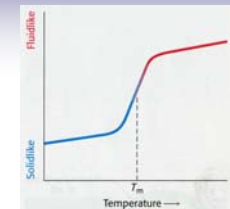


Á. Telbisz et al. / Biochimica et Biophysica Acta 1768 (2007) 2698–2713



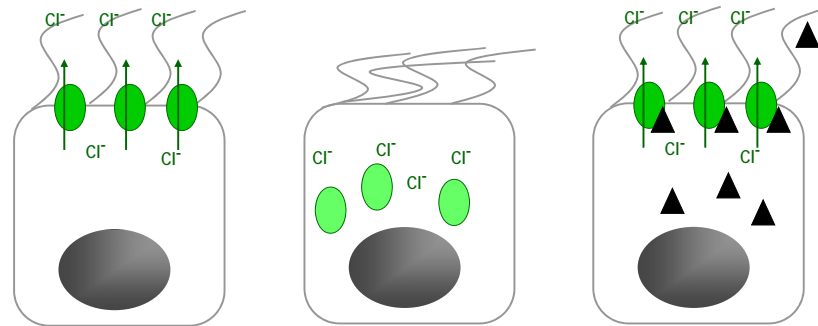
## A membrán fluiditása, fázisátmenetei

- Hőmérséklet
  - Összetétel
- fázisátalakulás
- lánchossz
  - cis-kötések
  - koleszterin



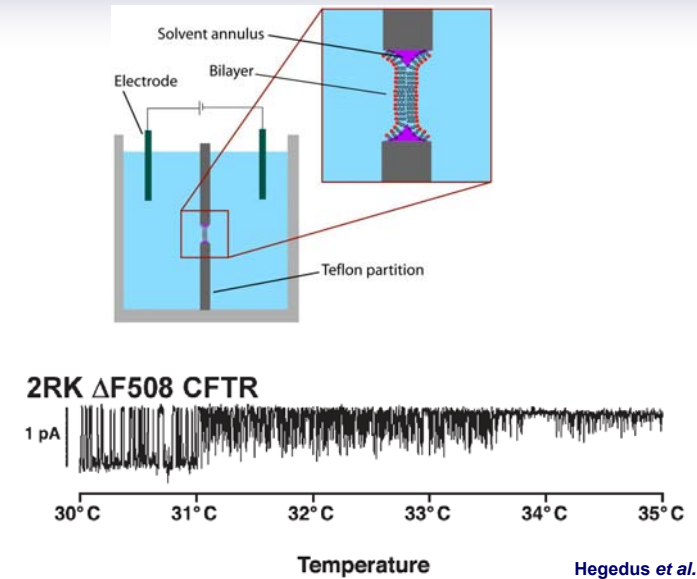


## Cystic fibrosis



## CFTR működésének lipid és hőmérséklet függése

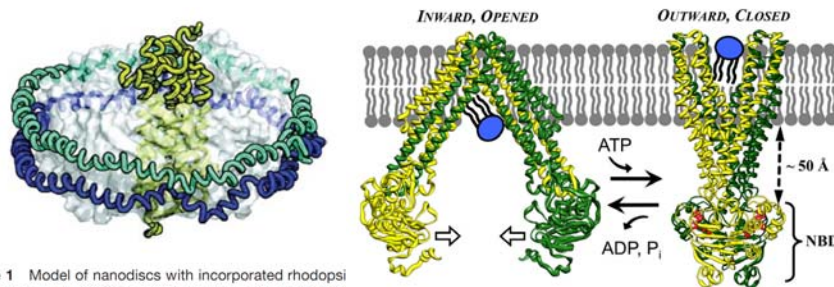
black membrane



Hegedus et al. BBA 2006

## Membránfehérjék nanodisc-ben

T. Kawai et al./FEBS Letters 585 (2011) 3533–3537

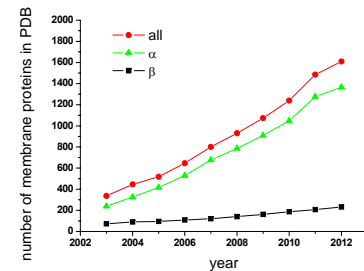
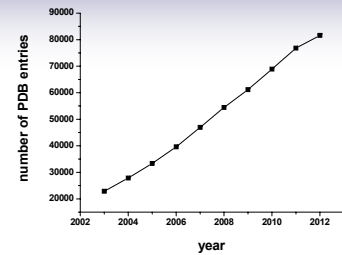
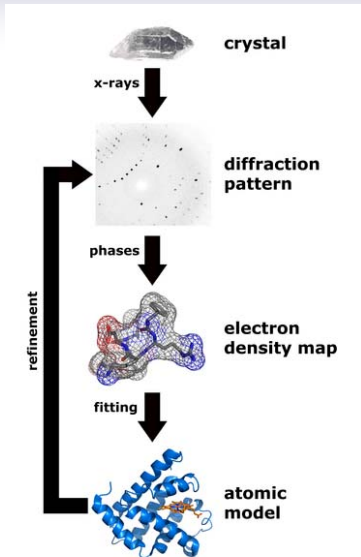


**Figure 1** Model of nanodiscs with incorporated rhodopsin. Blue: membrane scaffold protein; gray: phospholipid bilayer, green: rhodopsin. The model was adapted from Nath et al. (2007a).

## Lipid-összetétel – lokális működés szabályozás

	chol	PC	PE	PS	PI	PG	CL
plazmamembrán	30	18	11	9	4	0	0
Golgi-komplex	8	40	15	4	6	0	0
SER	10	50	21	0	7	0	2
RER	6	55	16	3	8	0	0
magmembrán	10	55	20	3	7	0	0
lizoszóma membr.	14	25	13	0	7	0	5
mitokondriális							
belső membrán	3	45	24	1	6	2	18
külső membrán	5	45	23	2	13	3	4

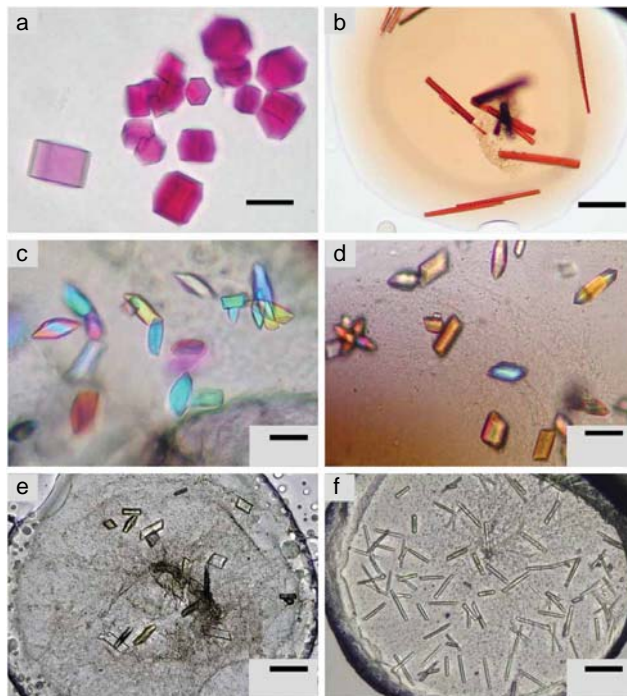
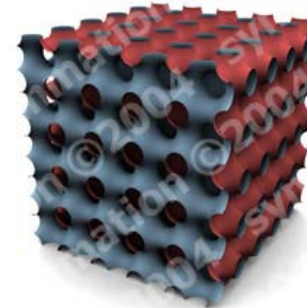
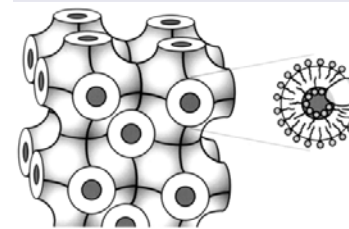
## Szerkezet meghatározás – Röntgen krisztallográfia



pdbtm.enzim.hu, Tudsnády Gábor

## Szerkezet meghatározás – cubic phase

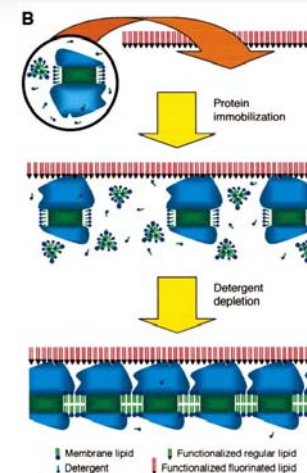
monoolein/water



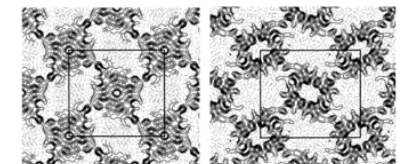
Crystals of membrane proteins growing in the lipidic mesophase.

- (a) Bacteriorhodopsin
- (b) light-harvesting complex II
- (c) adhesin/invasin OpcA
- (d) vitamin B12 transporter BtuB
- (e) human b2 adrenergic receptor-T4 lysozyme chimera
- (f) Carbohydrate transporter from *Pseudomonas*.

## Szerkezet meghatározás – 2D kristály



2D kristály



## Mai témák

- Kísérletes módszerek membránok modellezésére
- Elméleti módszerek membránok modellezésére

## Szimulációk létjogosultsága

Atomi szintű információt adnak mozgásokról.

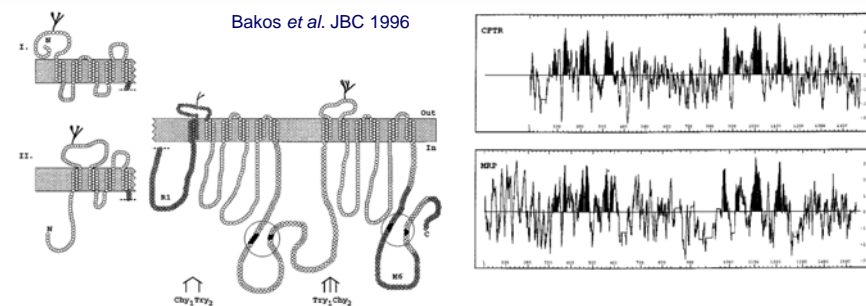
Kísérletes módszerek általában nem szolgáltatnak közvetlen információt az atomi szintű történésekről

PI. NMR és MD - igen

## Szimulációk problémái

- A vizsgálni kíván membránfehérje térszerkezete nem ismert
- Általában a membránfehérjék membrán topológiája sem ismert
- Lipid-lipid, lipid-fehérje kölcsönhatások fizikai alapjai kevésbé ismertek
- Nagy rendszer, sok atom ➔ csak rövid szimulációk lehetségesek

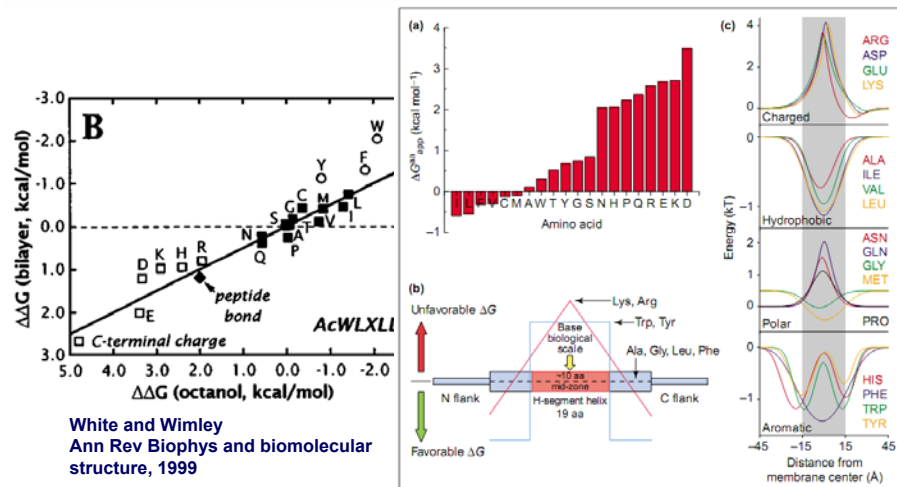
## Membránfehérjék topológiája



[www.expasy.org](http://www.expasy.org)

Tusnády Gábor, [www.enzim.hu](http://www.enzim.hu)

## Aminosavak megoszlása

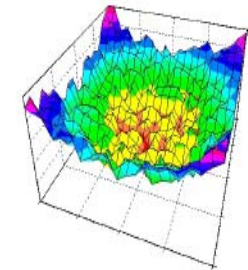


White and von Heijne, Current opinion in structural biology, 2005

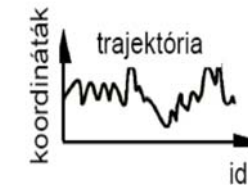
## Molekuláris dinamika

### Molekuláris dinamika (MD)

- valós potenciálfelület
- mozgásegyenletek idő-lépésenkénti numerikus megoldása
- trajektória



- idő (CPU, valós)
- potenciál kiszámolása a szűk keresztmetszet
- numerikus integrálás hibája
- fs-os integrációs lépések
- oldószer (explicit/implicit)
- „boundary condition”



## A „force field” – II.

Baker (2007)

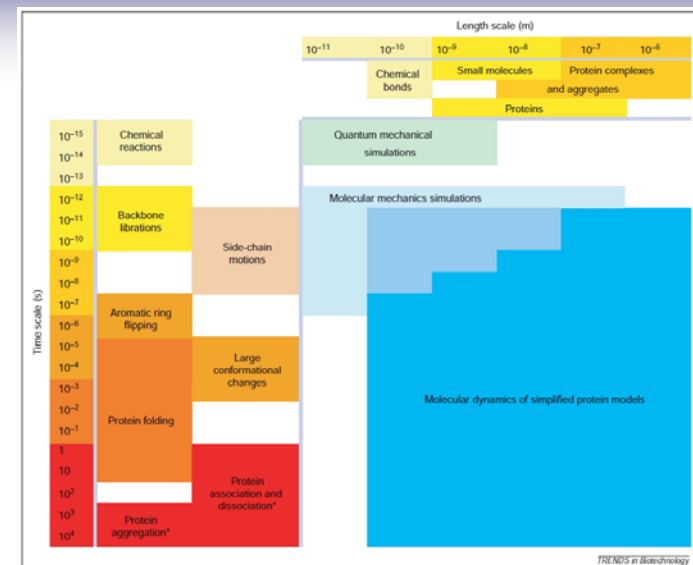
$$E_{\text{prot}} = W_{\text{rot}} E_{\text{rot}} + W_{\text{atr}} E_{\text{atr}} + W_{\text{rep}} E_{\text{rep}} + W_{\text{solv}} E_{\text{solv}} + W_{\text{pair}} E_{\text{pair}} + W_{\text{mbenv}} E_{\text{mbenv}} + W_{\text{hbond}} E_{\text{hbond}} - E_{\text{ref}}$$

$$E_{\text{mbenv}} = \sum_i^{\text{natom}} \Delta G_i^{\text{ref}}(z') \quad \Delta G_i^{\text{ref}}(z') = (1 - f(z')) * (\Delta G_i^{\text{ref, chex}} - \Delta G_i^{\text{ref, water}})$$

TABLE II. Atomic Contribution to the Solvation Free Energy in Water and Cyclohexane

	Water	Chex		Water	Chex
CR	-0.890	-1.350	NH3	-20.000	-1.145
CH1E	-0.187	-0.645	NC2	-10.000	-0.200
CH2E	0.372	-0.720	N	-1.000	-1.145
CH3E	1.089	-0.665	OH1	-5.920	-0.960
CR1E	0.057	-0.410	O	-5.330	-1.270
NH1	-5.950	-1.145	OC	-10.000	-0.900
NR	-3.820	-1.630	S	-3.240	-1.780
NH2	-5.450	-1.145	SH1E	-2.050	-1.855

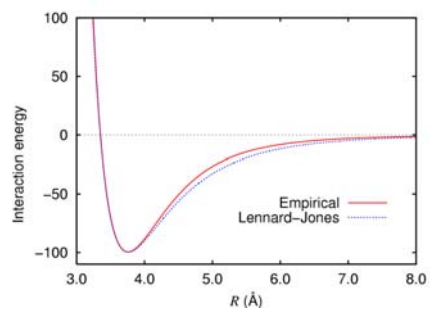
## „Események” időskálája



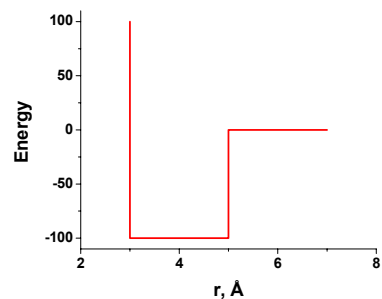
F. Ding and N.V. Dokholyan, TRENDS in Biotechnology, 23:450 (2005)



## Diszkrét Molekuláris Dinamika (DMD)



wikipedia



Ding, F., Dokholyan, N. V. PLoS Comput Biol 2:e85

## Egyszerűsített (Coarse Grain) modellek

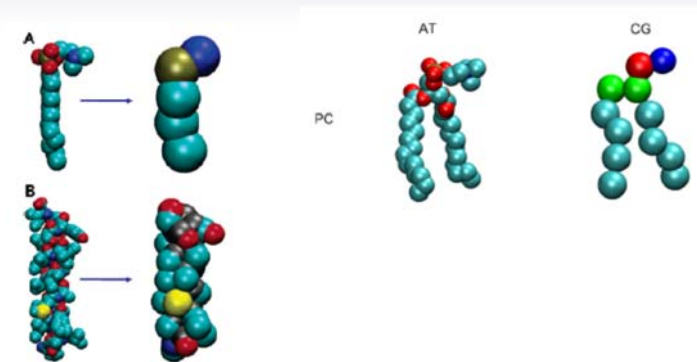


Figure 1. Atomistic (left-hand) and coarse-grained (right-hand) models compared for (A) a DPC molecule and (B) a GpA helix. Colors for atoms:

Bond, Sansom, Oxford University  
Marrink, Groningen, MARTINI force field

## Lipid struktúrák összeszerelődése

Langmuir 2010, 26(7), 4687–4692

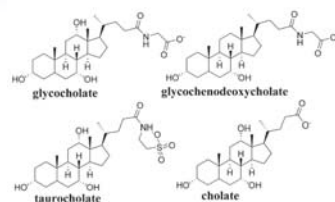
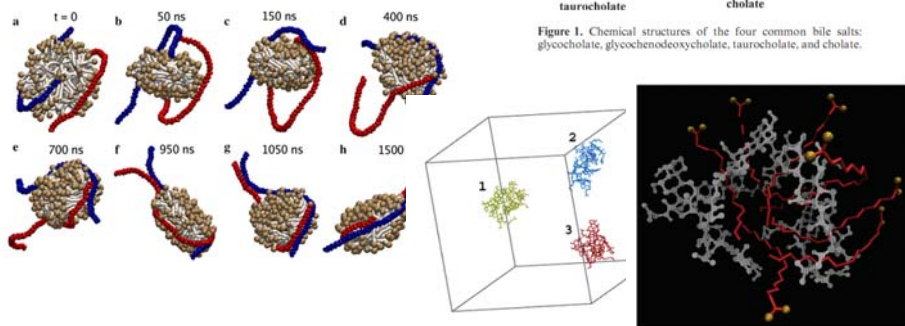
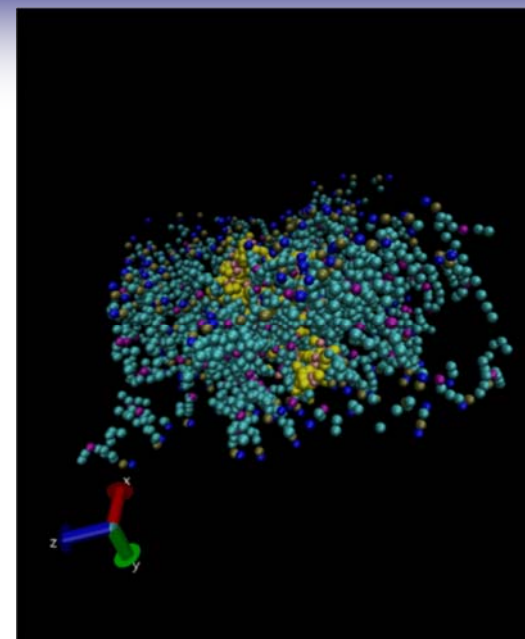


Figure 1. Chemical structures of the four common bile salts: glycocholate, glycochenodeoxycholate, taurocholate, and cholate.

A.Y. Shih et al. / Journal of Structural Biology 157 (2007) 579–592

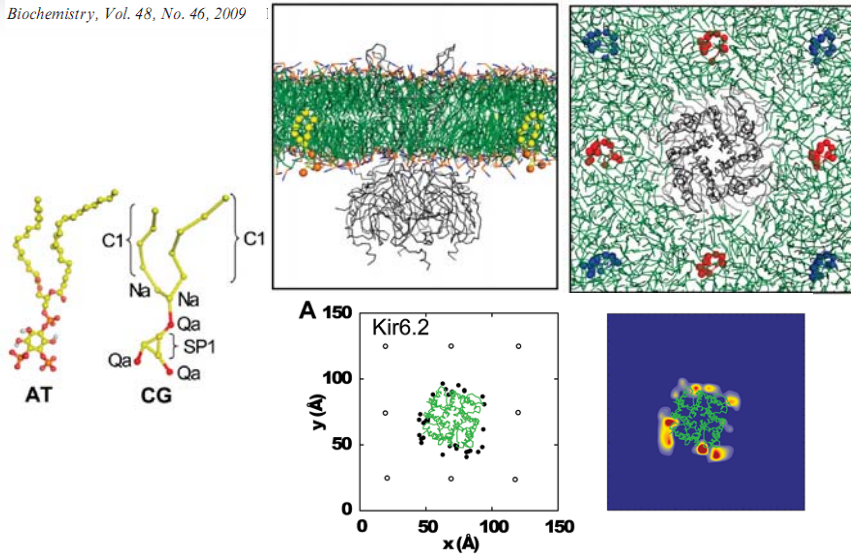


## Kettősréteg felépülése a fehérje köré



## PIP2 kötődése Kir kálium csatornához

Biochemistry, Vol. 48, No. 46, 2009

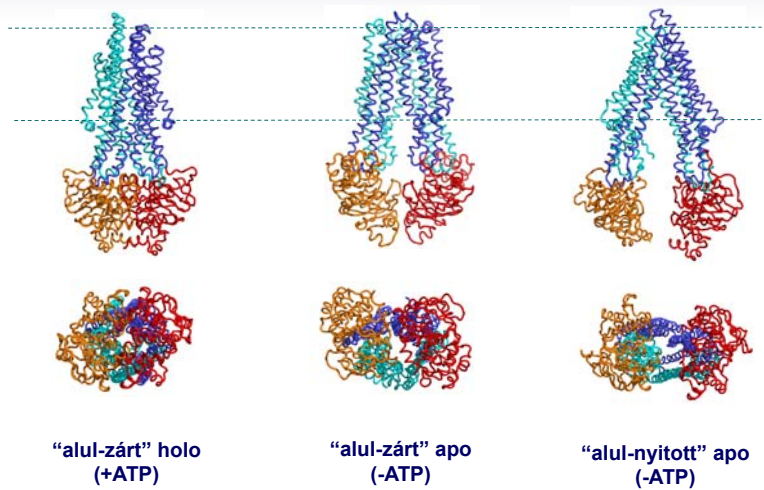


## Fehérjék konformációinak stabilitása

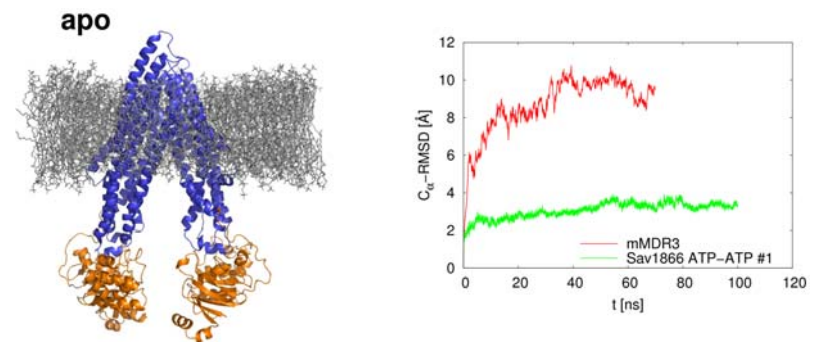
Eur Biophys J (2008) 37:403–409



## ABC fehérjék konformációi

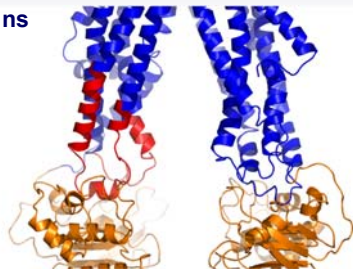


## Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil

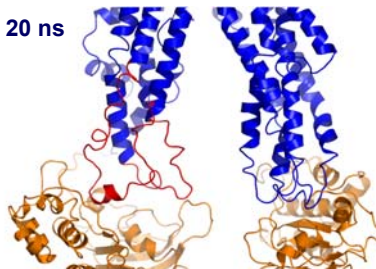


## Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil

t = 0 ns

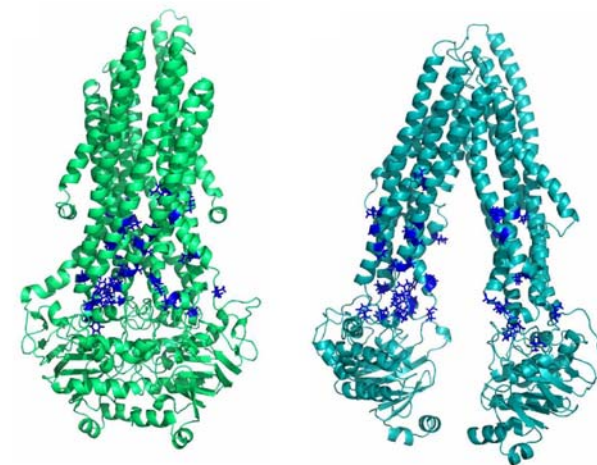


t = 20 ns



rendszer	megtartott hélix tartalom
Sav1866 ATP/ATP #1	90.04%
hMDR1 holo	91.84%
hMDR1 apo	64.30%
mMDR3	63.13%

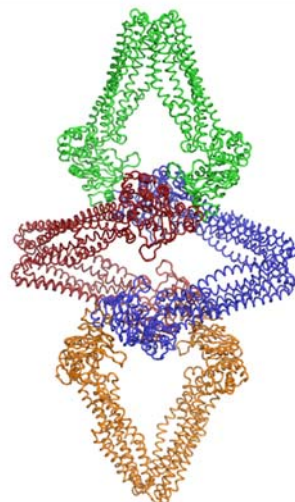
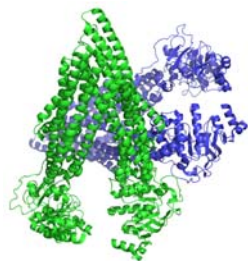
## Hidrofób aminosavak kerülnek felszínre



## Alul nyitott apo szerkezet elemi cellája

mMDR3, PDBID:3G5U

MsbA, PDBID:3B5W



## Köszönetnyilvánítás

[www.hegelab.org](http://www.hegelab.org)

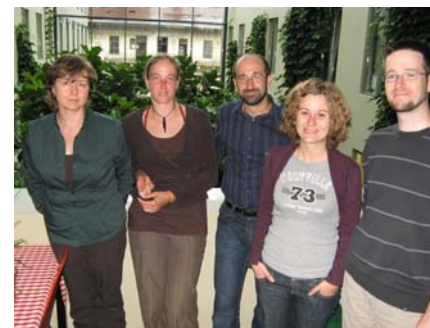
Tordai Hedvig  
Sarankó Hajnalka  
Gyimesi Gergely  
Tóth Attila  
Erdős Gábor

**Sarkadi Balázs**

MTA-SE Membránbiológiai Kutatócsoport

**Kellermayer Miklós**

SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet



### Támogatások:

FP7 IRG (Marie Curie)  
NKTH-OTKA-FP7 Mobilitás  
MTA Bolyai ösztöndíja