

DNS, RNS, FEHÉRJÉK

KELLERMAYER MIKLÓS

MAKROMOLEKULÁK BIOFIZIKÁJA

- Tér

Méret, alak, lokális és globális szerkezet

- Idő

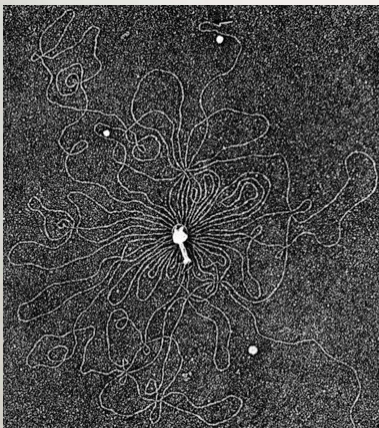
Fluktuációk, szerkezetváltozások, gombolyodás

- Kölcsönhatások

Belső és külső kölcsönhatások, kötések, kötési energiák
Mechanika, rugalmasság

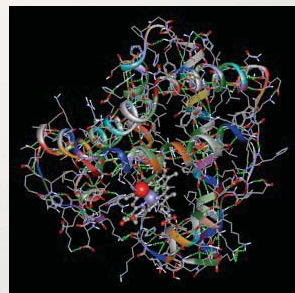
BIOLÓGIAI MAKROMOLEKULÁK

HATALMAS MOLEKULÁK

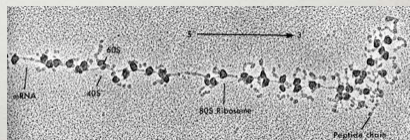


Bakteriofágból kiszabaduló DNS fonal
Mi határozza meg a DNS globális alakját és rugalmasságát?

ÉRDEKES MOLEKULÁK

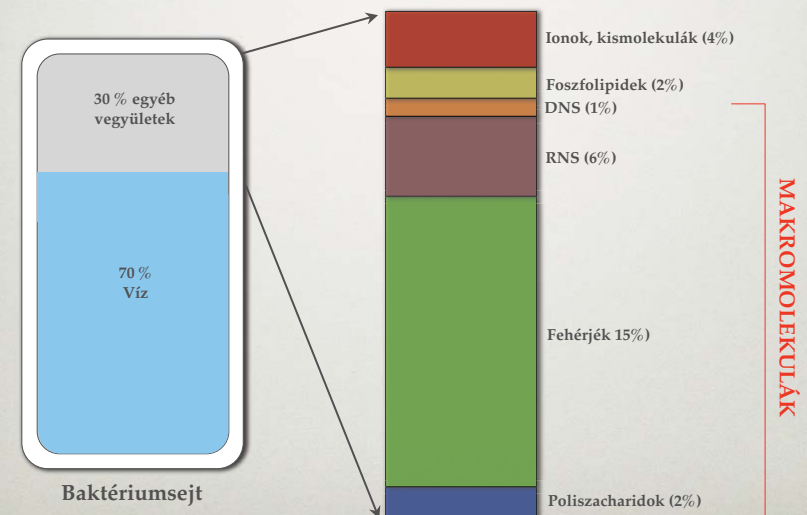


Hemoglobin alegység (térszerkezeti modell)
A fehérje hogyan veszi fel térszerkezetét?



Újonnan termelődő fehérje (selyemfibroin)

A MAKROMOLEKULÁK **TÖMEG** SZERINTI MENNYISÉGE A SEJT BEN **NAGY**



A BIOLÓGIAI MAKROMOLEKULÁK BIOPOLIMÉREK

Polimérek:
Építőkövekből, monomerekből felépülő láncok

Monomerek száma: $N \gg 1$;
Típusosan, $N \sim 10^2 - 10^4$,
de DNS: $N \sim 10^9 - 10^{10}$

Biopolimer	Egység	Kötés
Fehérje	Aminosav	Kovalens (peptidkötés)
Nukleinsav (RNS, DNS)	Nukleotid (CTUGA)	Kovalens (foszfodiészter)
Poliszacharid (pl. glikogén)	Cukor (pl. glukóz)	Kovalens (pl. α-glikozid)
Fehérjepolimer (pl. mikrotubulus)	Fehérje (pl. tubulin)	Másodlagos

A POLIMÉREK ALAKJA A BOLYONGÓ MOZGÁSRA EMLÉKEZTET

Bolyongó (Brown-féle) mozgás
("random walk")

"Négyzetgyök törvény": $\langle R^2 \rangle = Nl^2 = Ll$

R = vég-vég távolság
 r_i = elemi vektor
 N = elemi vektorok száma
 $l = |r_i|$ = korrelációs hossz ("perzisztencia hossz", hajlítási merevséget jellemzi)
 $Nl = L$ = kontúrhossz

Bolyongó (diffúzióvezérelt) mozgás esetén
 R =elmozdulás, N = elemi lépések száma, L =teljes megtett út, és l =átlagos szabad úthossz.

Az elemi vektorok orientációs rendezetlenségére törekvése **rugalmasságot** eredményez

Entropikus* rugalmasság:
Termikus gerjesztésre a polimerlánc random, ide-oda hajló fluktuációkat végez.

↓

Nő a lánc konformációs entrópiája (elemi vektorok orientációs rendezetlensége).

↓

Az entrópiamaximumra törekvés miatt a polimerlánc rövidül.

*Entrópia: rendezetlenség

A GLOBÁLIS ALAK ÉS RUGALMASSÁG KÖZÖTT ÖSSZEFÜGGÉS VAN

l = perzisztencia hossz (hajlítómerevséget jellemzi)
 L = kontúrhossz

Merev lánc
 $l \gg L$

Mikrotubulus

Szemiflexibilis lánc
 $l \sim L$

Aktin filamentum

Flexibilis lánc
 $l < L$

DNS molekula

ENTROPIKUS RUGALMASSÁG VIZUALIZÁLÁSA

Csomókötés EGYETLEN DNS LÁNCRÁ

mikrogyöngy mozgatható lézercsipeszben

Fáziskontraszt kép

Fluoreszcencia kép

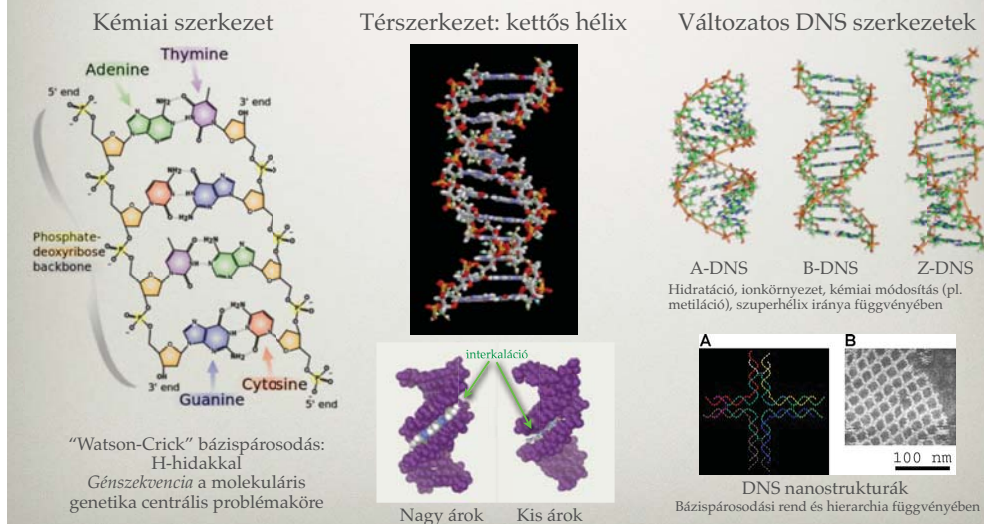
mikrogyöngy stacionárius lézercsipeszben

Kinosita Group

1. DNS:

DEZOXIRIBONUKLEINSAV

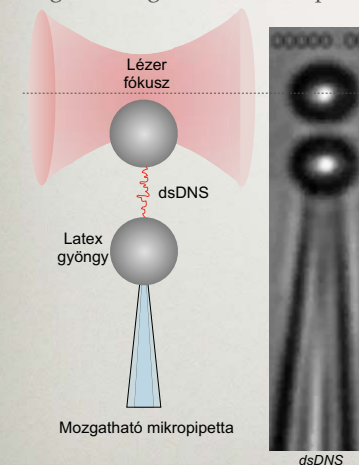
Funkció: biológiai raktármemória molekulája



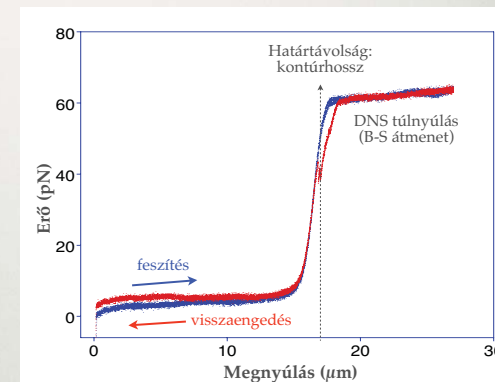
A DNS-MOLEKULA

RUGALMAS!

Rugalmasságmérés: lézercsippessel



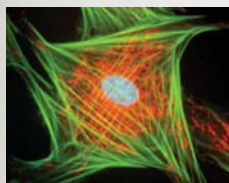
A dsDNS
rugalmas erőgörbéje



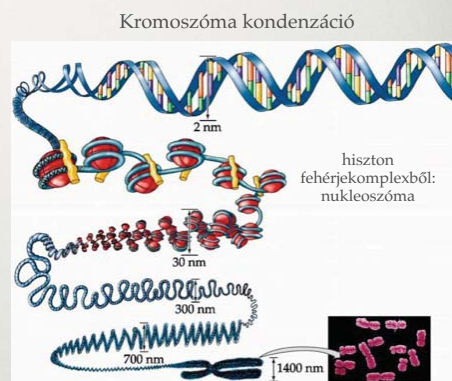
A dsDNS perzisztenciahossza ~50 nm
Benne ~65 pN-nál túlnyúlási átmenet

MENNYI DNS VAN A

SEJT BEN?



Megoldás: a DNS-t csomagolni kell



	Sejt: 20 μm oldalalú kocka	Analógia - Tanterem: 20 m oldalalú kocka
DNS vastagsága	2 nm	2 mm
Humán DNS teljes hossza	~2 m	~2000 km (!!!)
dsDNS perzisztenciahossza	~50 nm	~50 cm
dsDNS vég-vég távolsága (R)	~350 μm (!)	~350 m (!)
Teljesen kompakt DNS térfogata	~2 x 2 x 2 μm ³	~2 x 2 x 2 m ³ (= 8 m ³)

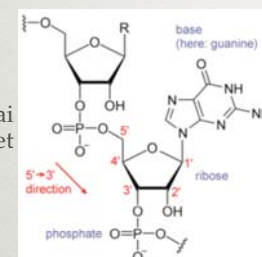
- Magas rendű DNS csomagolásban szerepet játszó fehérjék: **kondenzinek**
- DNS lánc: lineáris, bonyolult akadálypálya!

2. RNS:

RIBONUKLEINSAV

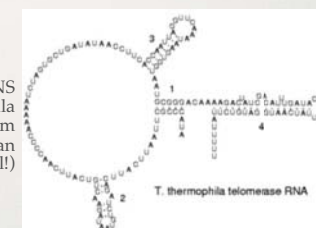
Funkció: információátvitel (transzkripció), szerkezeti elem (pl. riboszóma), szabályozás (génexpresszió ki-, bekapcsolása)

Kémiai
szerkezet



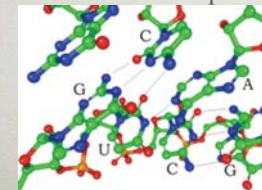
Cukor:
ribóz
Bázisok:
adenin
uracil
guanin
citozin

Az RNS
molekula
(nem
párban
áll!)

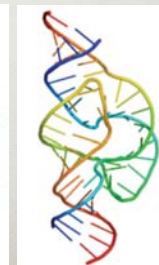


Másodlagos
és
harmadlagos
szerkezetek

“Watson-Crick” bázispárosodás



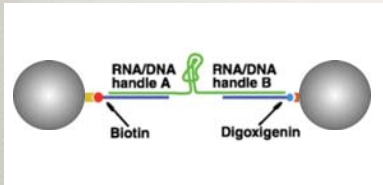
RNS hajtű
(hairpin)



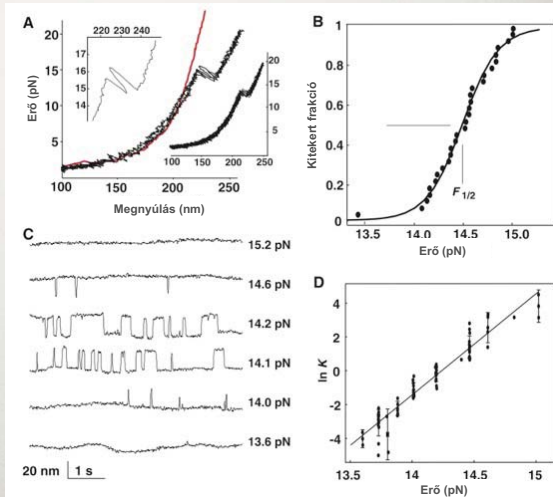
Komplex
szerkezet
(ribozim)

AZ RNS SZERKEZET MECHANIKAI ERŐVEL MEGBONTHATÓ

Mechanikai feszítés
lézercsipesszel



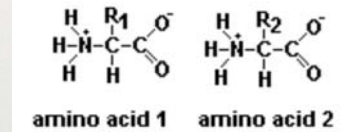
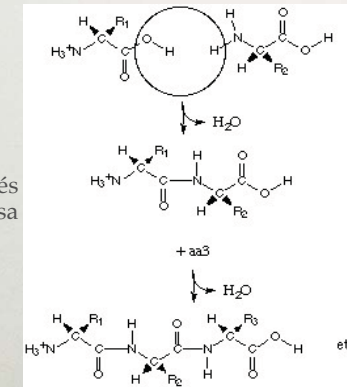
RNS hajtú mechanikai kitekerése:
közel reverzibilis folyamat -
az RNS hajtú gyorsan
visszarendeződik



3. FEHÉRJÉK: PEPTID KÖTÉSSEL EGYBEKAPCSOLT BIOPOLIMÉREK

Funkció: az élet legfontosabb molekulái - rendkívül változatos funkciók
szerkezet, kémiai katalízis, energiaátalakítás, motorikus feladatok, stb.

A peptidkötés
és kialakulása



Víz felszabadulással járó
kondenzációs reakció

FEHÉRJÉK SZERKEZETE

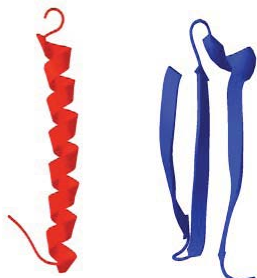
Elsődleges

Aminosav-
sorrend

Meghatározza a
tér szerkezetet is

Másodlagos

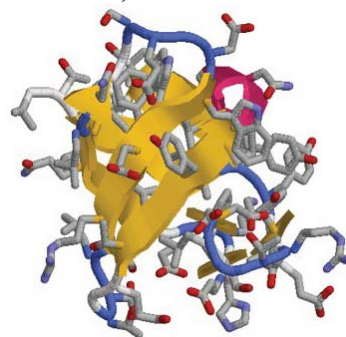
α -hélix
 β -lemez
 β -kanyar (hajtú)



- α -hélix:
- jobbmenetes
 - 3.4 aminosav/
emelkedés
 - H-hidak
- β -lemez:
- párhuzal v.
antipárhuzal
 - H-hidak távoli
aminosavak között

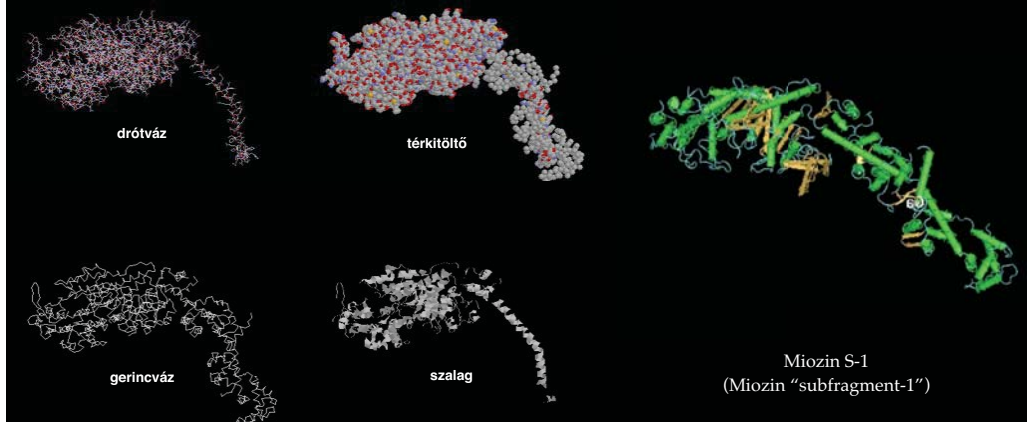
Harmadlagos

Egyláncú fehérje
teljes térszerkezete



*Negyedleges szerkezet: önálló
alegységek komplexbe kapcsolódása

FEHÉRJESZERKEZET MEGJELENÍTÉSE



Miozin S-1
(Miozin "subfragment-1")

FEHÉRJESZERKEZETET ÖSSZETARTÓ KÖLCSONHATÁSOK

- Gyenge (másodlagos) kötések**
1. **Hidrogén híd:** megosztott proton a protondonor oldalláncok között.
 2. **Elektrosztatikus kölcsönhatás** (sókötés): ellentétesen töltött részek között.
 3. **van der Waals kötés:** lezárt elektronhéjak közötti gyenge kölcsönhatás.
- Kovalens kötés**
4. **Hidrofób-hidrofób kölcsönhatás:** hidrofób molekularészek között (molekula belsejében).
 5. **Diszulfid híd:** cisztein aminosavak között; egymástól távol levő láncokat kapcsol össze.

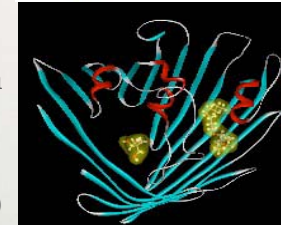
FEHÉRJESZERKEZETI OSZTÁLYOK

1. Tiszta alfa



calmodulin

2. Tiszta béta

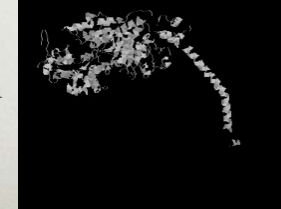


porin

(3. Alfa-béta)

4. Multidomén

Domén:
fehérjegyombolyadási
"alegység"



miozin

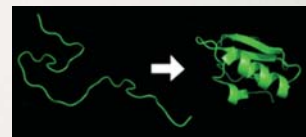
Bár ahány fehérje,
annyi egyedi
szekvencia, a
tér szerkezet alapján
a fehérjék néhány
fő osztályba
sorolhatók!

HOGYAN ALAKUL KI A FEHÉRJE TÉRSZERKEZETE?



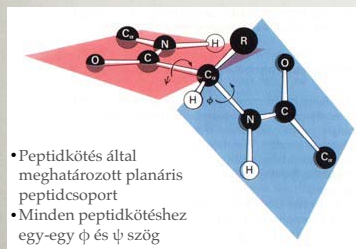
Christian Anfinsen
(1916-1995)

Anfinsen: a fehérjék spontán gombolyodnak (az aminosav sorrend meghatározza a szerkezetet)



Kitekert állapot Natív szerkezet (N)
Legáltalacsonyabb energia

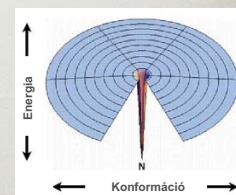
Levinthal-féle paradoxon (Cyrus Levinthal, 1969):
Kipróbálja-e a fehérje az összes lehetséges konformációt?



A lehetséges konformációk (szabadsági fokok) száma: i^n

i = az egyetlen ϕ vagy ψ szöghöz tartozó elméletileg lehetséges szögállások száma
 n = ϕ vagy ψ szögek összes száma

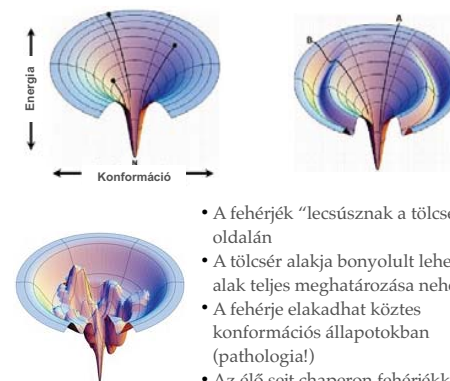
Pl.: 100 aminosavból álló peptidben a ϕ vagy ψ szögállások lehetséges száma legyen 2.
 $n=198$ m. Szabadsági fokok száma 2^{198} (!!!)



Mi a valószínűsége, hogy egy biliárdgolyó véletlenszerű mozgással beetalál a lyukba?

A FEHÉRJEGOMBOLYODÁST A KONFORMÁCIÓS TÉR ALAKJA VEZÉRLI

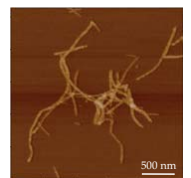
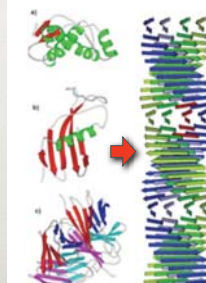
Konformációs tér: gombolyadási tölcser ("folding funnel")



- A fehérjék "lecsúsznak a tölcser oldalán"
- A tölcser alakja bonyolult lehet (az alak teljes meghatározása nehézkes)
- A fehérje elakadhat köztes konformációs állapotokban (pathologia!)
- Az élő sejt chaperon fehérjékkel segíti a gombolyodást

Pathológia

- Fehérjegyombolyadási rendellenességek ("folding disease")
- Alzheimer-kór
- Parkinson-kór
- II. típusú diabetes
- Familiális amiloidotikus neuropátia

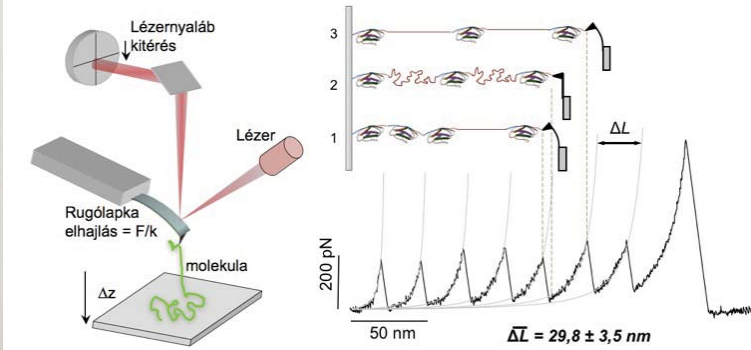


β -fibrillumok:
oldhatatlan precipitátum
kereszt- β szerkezet

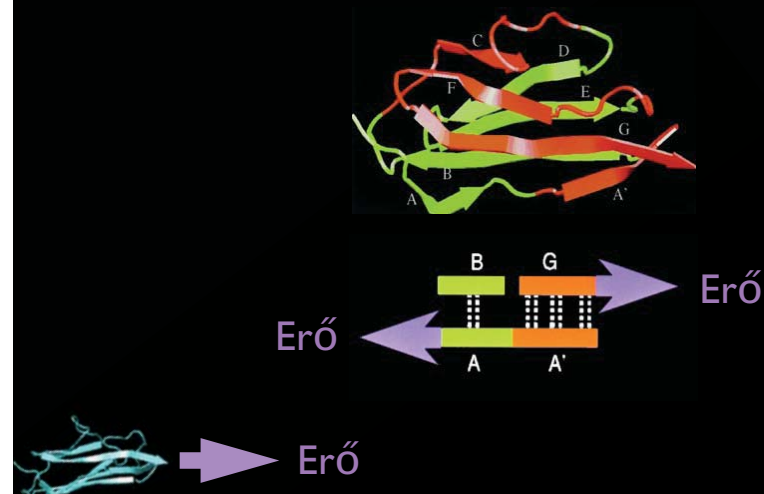
FEHÉRJEKITEKERÉSI MÓDSZEREK

- Hő
 - Kémiai ágens
 - Mechanikai erő
- Felszakítják a másodlagos kémiai kötések
Megbontják a másodlagos, harmadlagos szerkezetet

Egyetlen fehérjemolekula mechanikai kitekerése atomerőmikroszkóppal

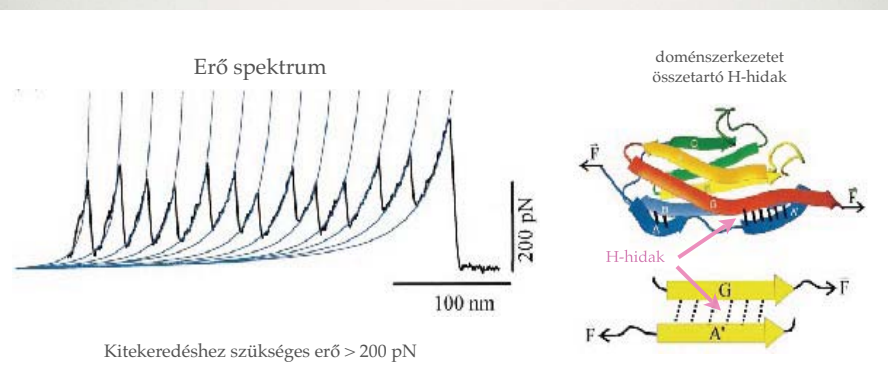


Titin Ig domének mechanikailag stabilak



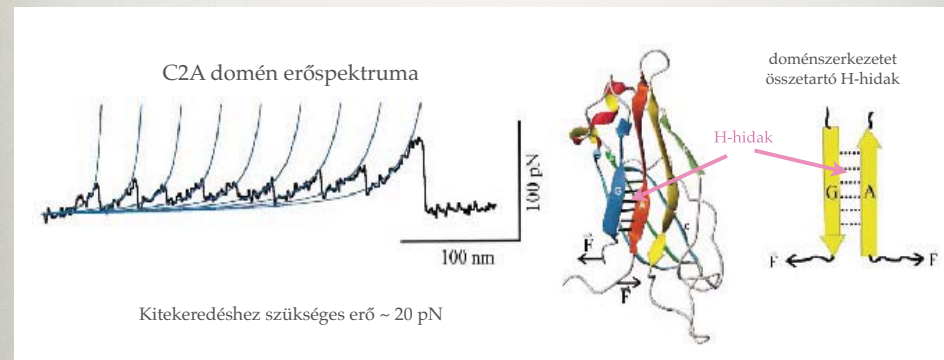
MECHANIKAI STABTILITÁS ALAPJA: H-HIDAK PÁRHUZAMOS CSATOLÁSA

Titin immunglobulin domének



ÁLACSONY MECHANIKAI STABILITÁS: H-HIDAK SORBA KAPCSOLTAN

H-hidak "zippzár"-szerű elrendezésben

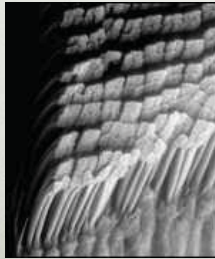


MECHANIKAI STABILITÁS LOGIKÁJA MAKROSZKOPIKUS RENDSZERBEN

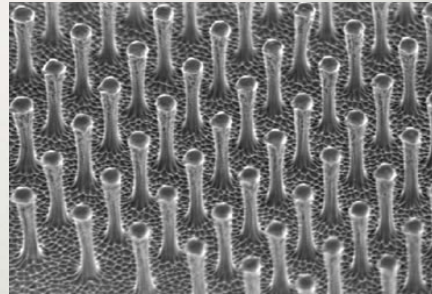
Kölcsönhatások párhuzamos csatolása



Gecko talp
tapadása:
Párhuzamosan
csatolt sertékkal



Alkalmazás:



Mesterséges gecko talp