

AZ ÉLŐ SEJT FIZIKAI BIOLÓGIÁJA: MOTORFEHÉRJÉK, EGYENSÚLYTÓL TÁVOLI FOLYAMATOK

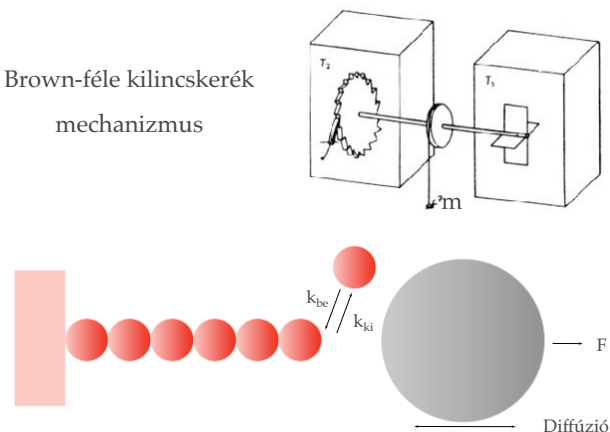
KELLERMAYER MIKLÓS

TEMATIKA

- Motorfehérjék működése. A munkaciklus
- Egyensúlytól távoli folyamatok. Erővezérelt fehérjegombolyodás.
- Bemutatók: in vitro motilitási próba. Az atomerőmikroszkóp. Titin kitekerés AFM-mel.

Termikus kilincskerék

Brown-féle kilincskerék
mechanizmus



MOTORFEHÉRJÉK

1. Specifikus citoszkeletális filamentumhoz kapcsolódnak (DE...)
2. Elmozdulást és erőt generálnak
3. Kémiai energiát használnak fel

A MOTORFEHÉRJÉK TÍPUSAI

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. **Kinezinok:** 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

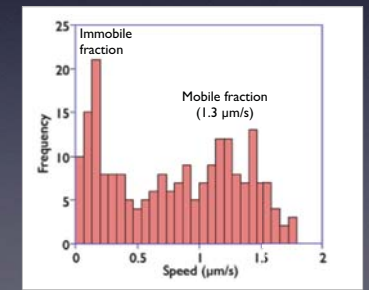
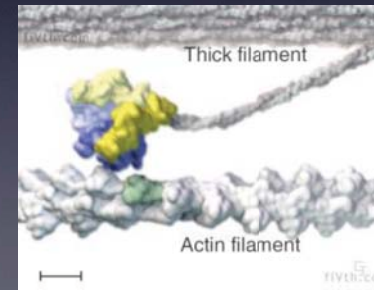
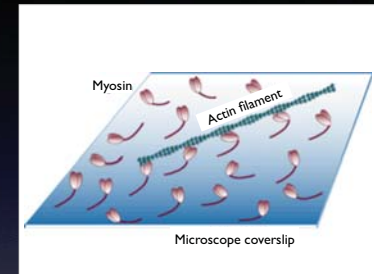
4. Rotációs motorok

F1F0-ATP szintetáz
Bakteriális flagelláris motor

5. Mechanoenzim komplexek

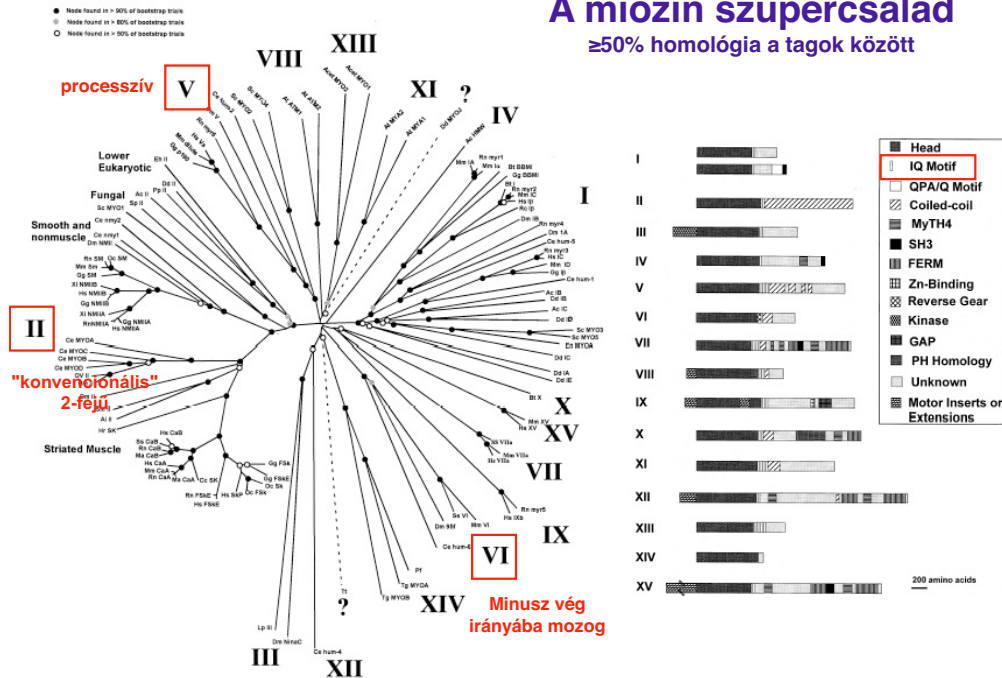
Riboszóma

In vitro aktomiozin motilitás

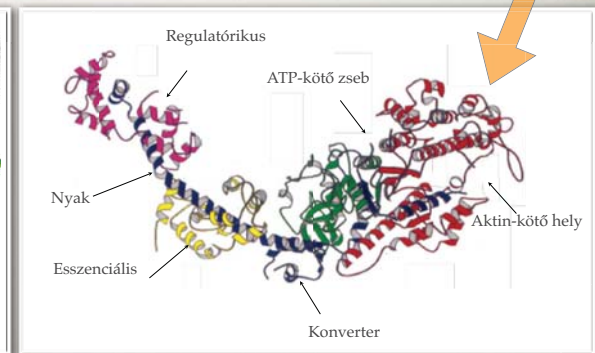
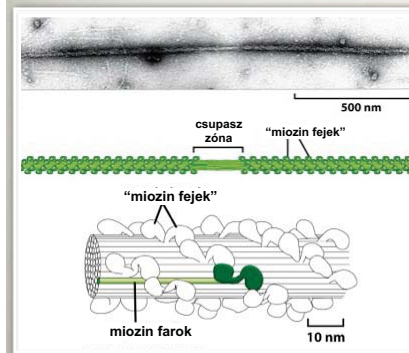
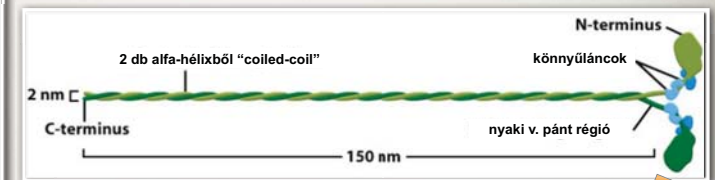
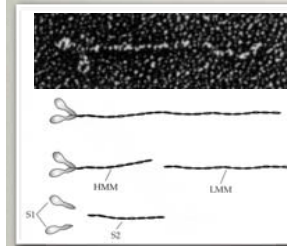


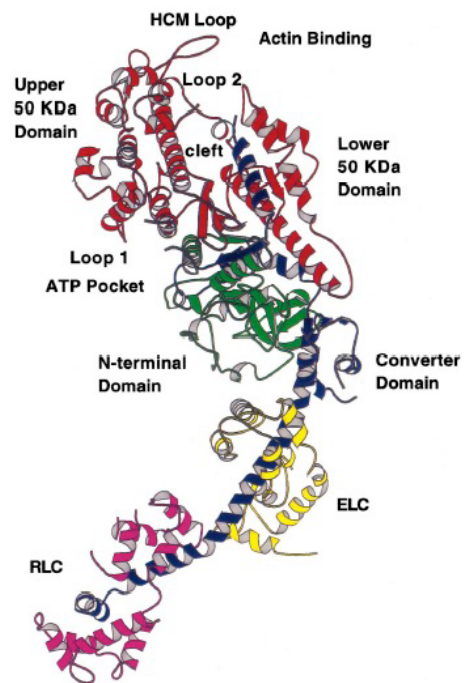
A miozin szupercsalád

≈50% homológia a tagok között

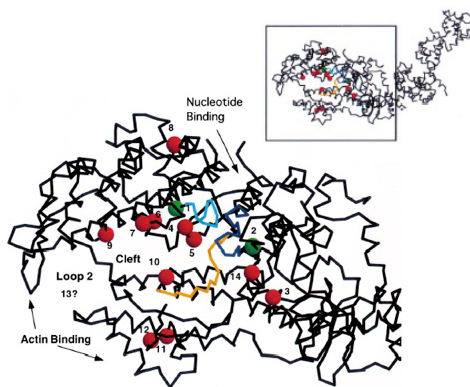


A miozin II





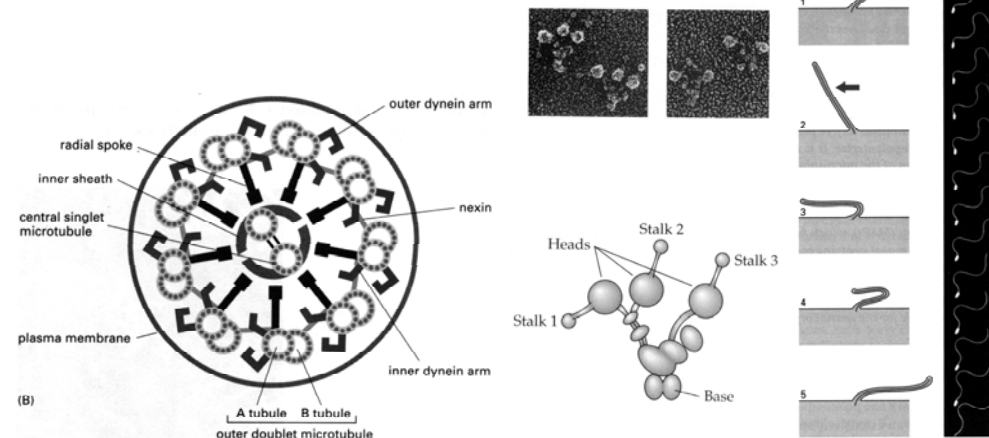
A miozin fej (Subfragment-1)



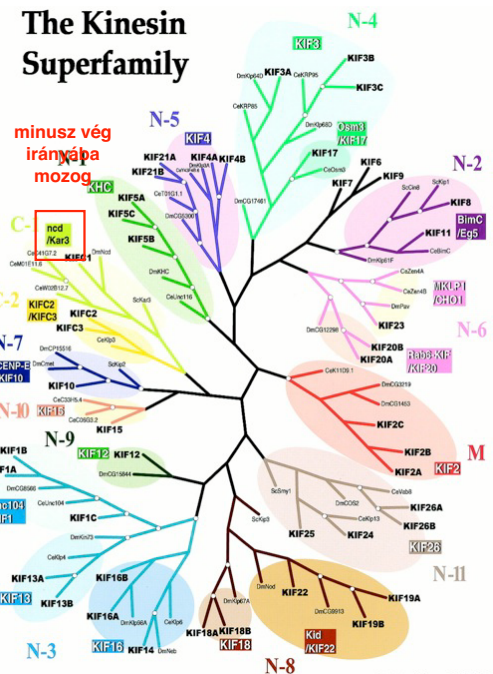
A motor domén mutációi
hipertrofiás kardiomiopátiához
vezetnek.

Dineinek

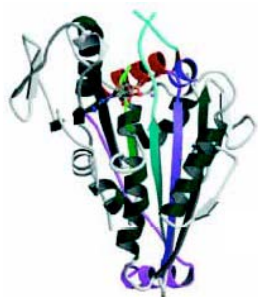
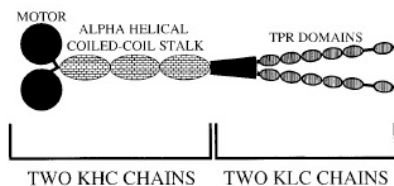
Típusok: axonemális és citoplazmális.
Sok alegységes fehérjék (Mr~500 kDa)
A minusz vég irányába mozognak.
Koordinált működésük meghajlítja a ciliumot.



The Kinesin Superfamily



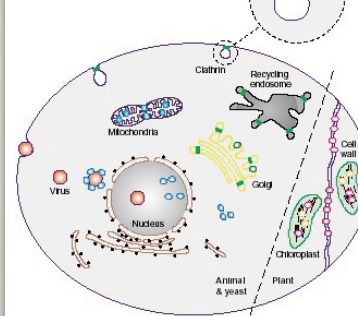
Processzív motorok.
Plusz vég irányába mozognak.
Vesicular transport



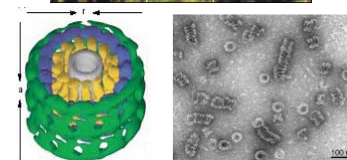
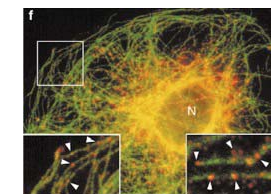
Switch domén:
hasonlóság a miozinhoz és
G-fehérjékhez.

DINAMINOK

Vakuoláris fehérjeválogatás
GTPázok

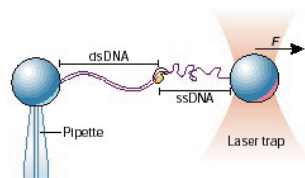


Protein	Localization	Function	Self-assembly
Dynamin	Plasma membrane (clathrin coated vesicles), Golgi, endosomes, Golgi	Vesicle formation, fission	+
Vps1		Vesicle formation and transport	Unknown
Dnm1 (Gtpase)	Mitochondria outer membrane	Mitochondrial fission and morphology	+
Mgm1 (Mgm1 GTPase)	Mitochondria inner or outer membrane, or matrix	Mitochondrial morphology	Unknown
Phragmoplastin	Cell wall, chloroplast	Membrane morphogenesis	+
ADL1	Cell wall, chloroplast	Membrane morphogenesis	+
ADL2	Chloroplast	Unknown	Unknown
PGSP1	Cytoplasm	Anti-viral activity	+
Mx	Cytoplasm, nucleus	Anti-viral activity	+

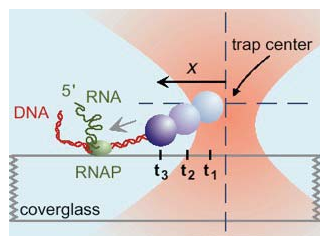


"pinchase" funkció

DNS MOTOROK

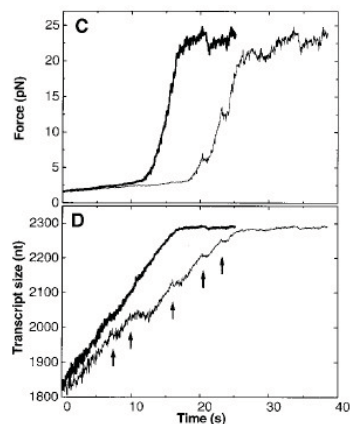


T7 DNS Polimeráz



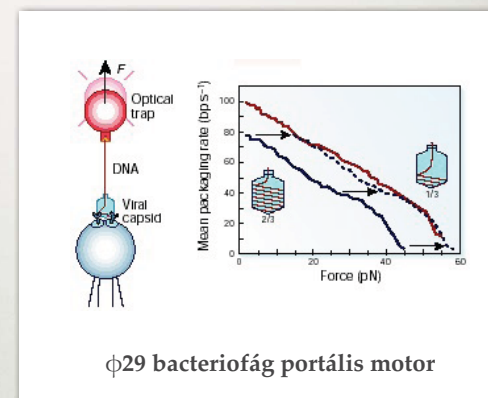
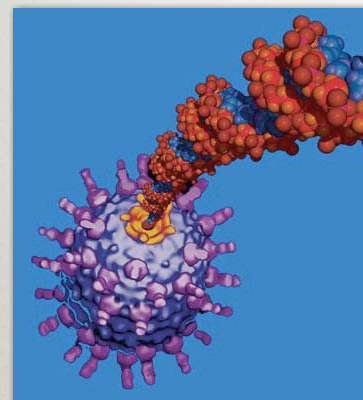
RNS Polimeráz

Processzív motorok



RNS Polimeráz, Wang et al. 1998.

VÍRUS PORTÁLIS MOTOR KÜLÖNLEGES DNS MOTOR

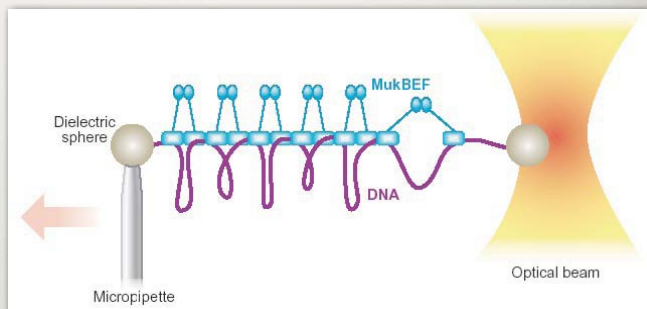
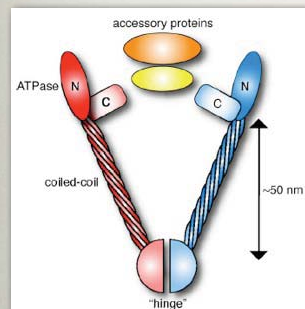


$\phi 29$ bakteriofág portális motor

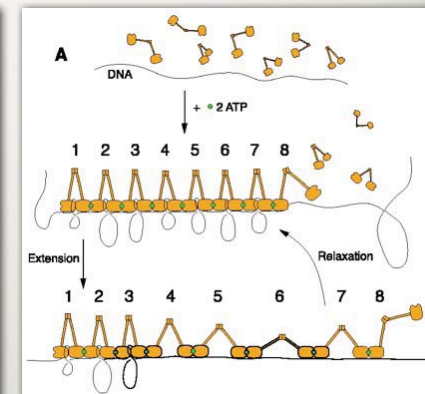
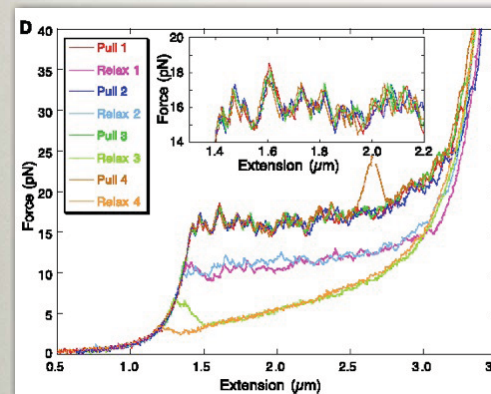
DNS MECHANOENZIMEK KONDENZINEK

SMC fehérjecsálád

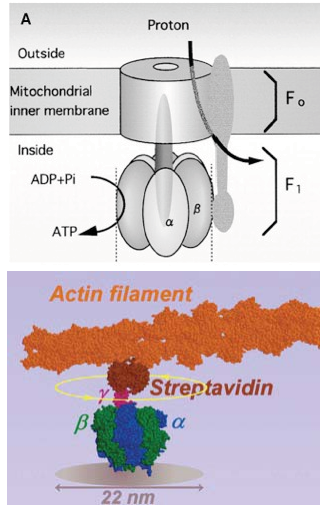
SMC = "structural maintenance of chromosomes"



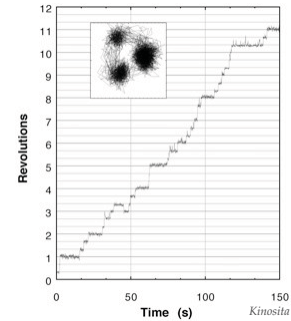
MUKBEF NANOMECHANIKA ÉS KONDENZÁCIÓS MODEL



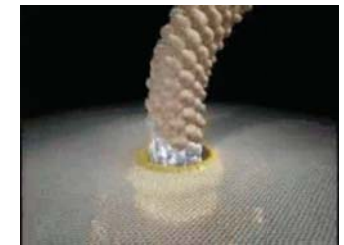
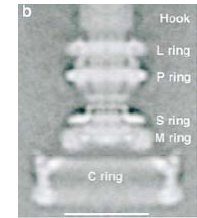
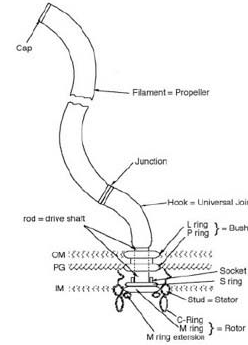
ROTÁCIÓS MOTOROK I: F1FO-ATP SZINTETÁZ



Diszkrét 120° rotációs lépések

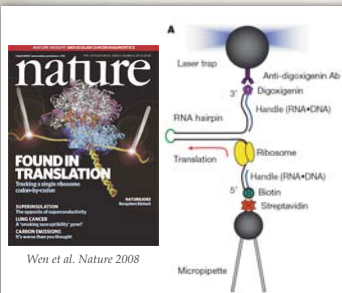


ROTÁCIÓS MOTOROK II: BAKTERIÁLIS FLAGELLUM MOTOR

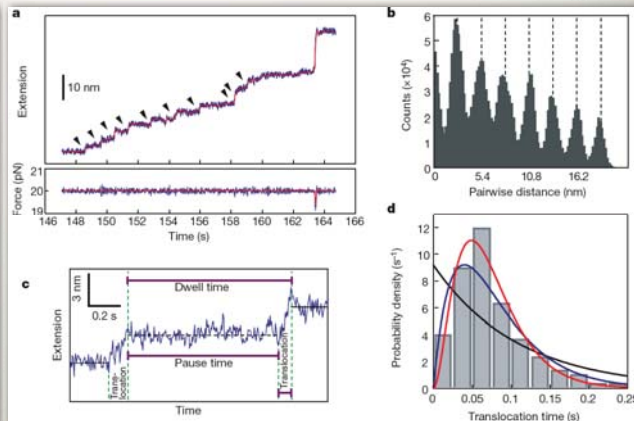


Fordulatszám: > 20000 rpm
Fogyasztás: 10^{-16} W
Hatásfok: > 80%
Energiaforrás: protonok

MECHANOENZIM KOMPLEX RIBOSZÓMA

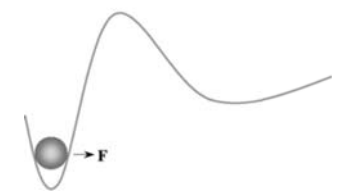
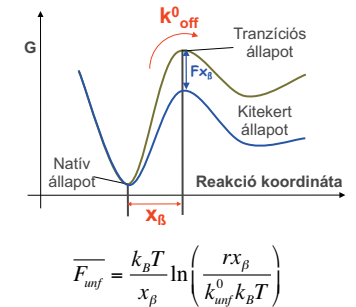
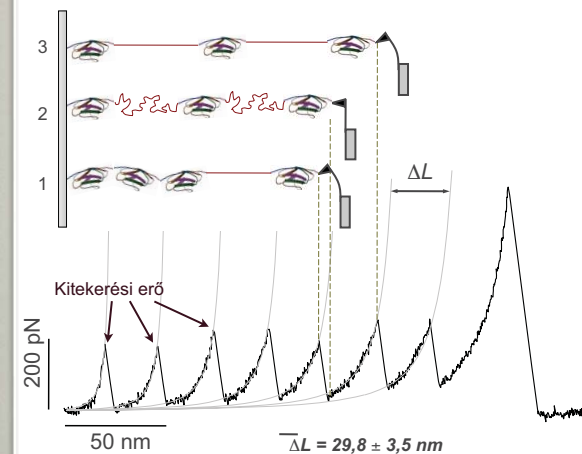


2.7 nm-es lépések (egy triplét)
0.078 s transzlukációs idő
Transzlukációval csatolt helikáz aktivitás



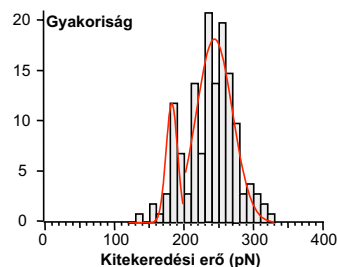
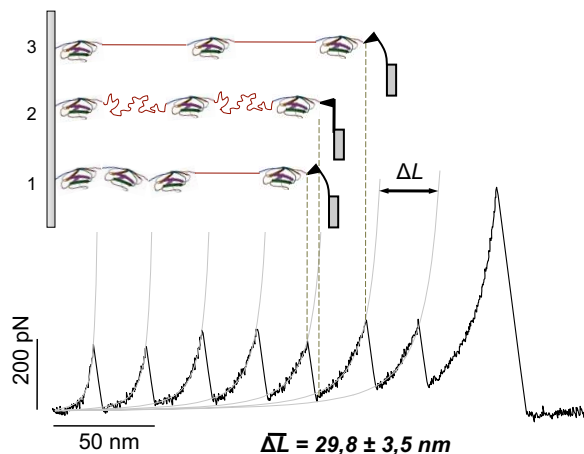
Erővezérelt fehérje-kitekeredés

Titin I55-62 rekombináns fragmentum kitekerése



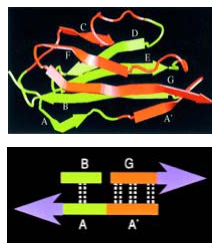
Titin I55-62: viszkoelasztikus molekulaszakasz

Az I55-62 fragmentum kitékeredési görbéje



Mechanikai stabilitás alapja:

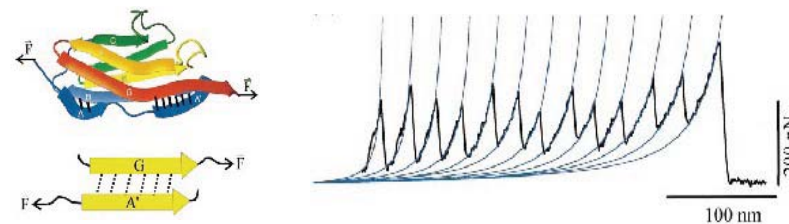
Az Ig domén első és utolsó β -láncait összetartó, párhuzamosan csatolt H-hidak



A mechanikai stabilitás biológiai logikája

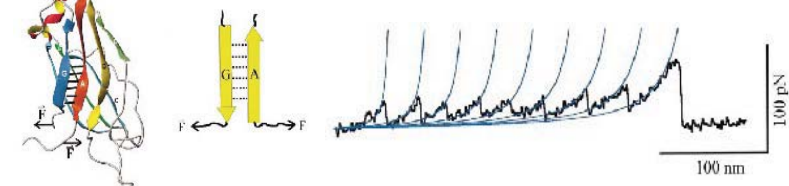
Szerkezetet összetartó H-hidak párhuzamos csatolása

Nagy kitékeredési erő

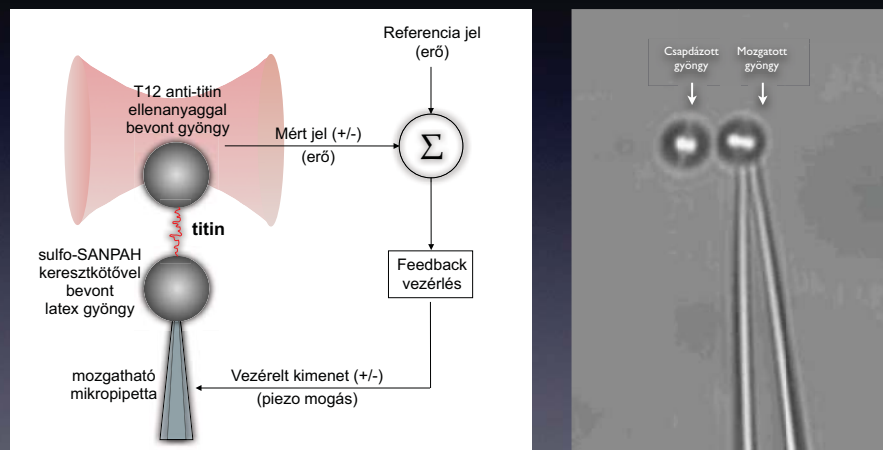


Szerkezetet összetartó H-hidak soros csatolása

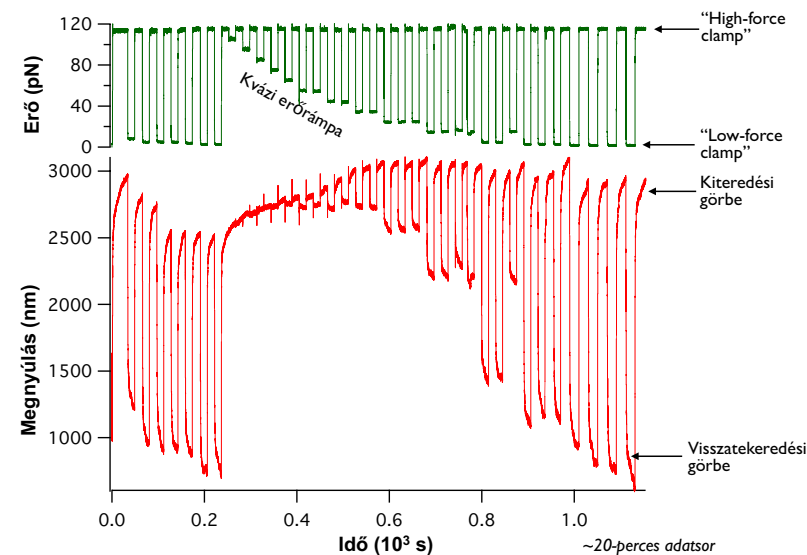
Alacsony kitékeredési erő



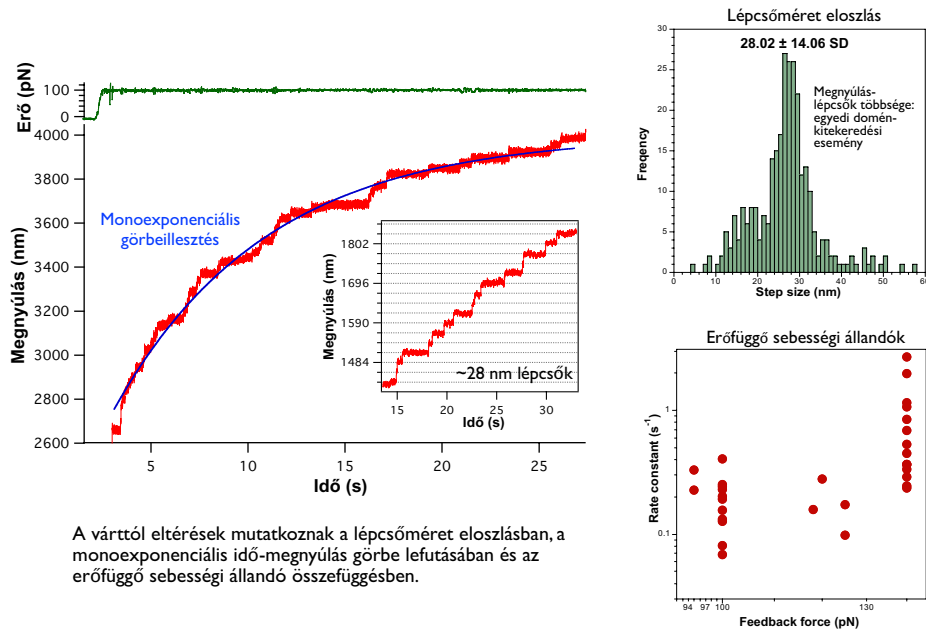
Titin nanomanipulálás erővisszacsatolt lézercsipesszel



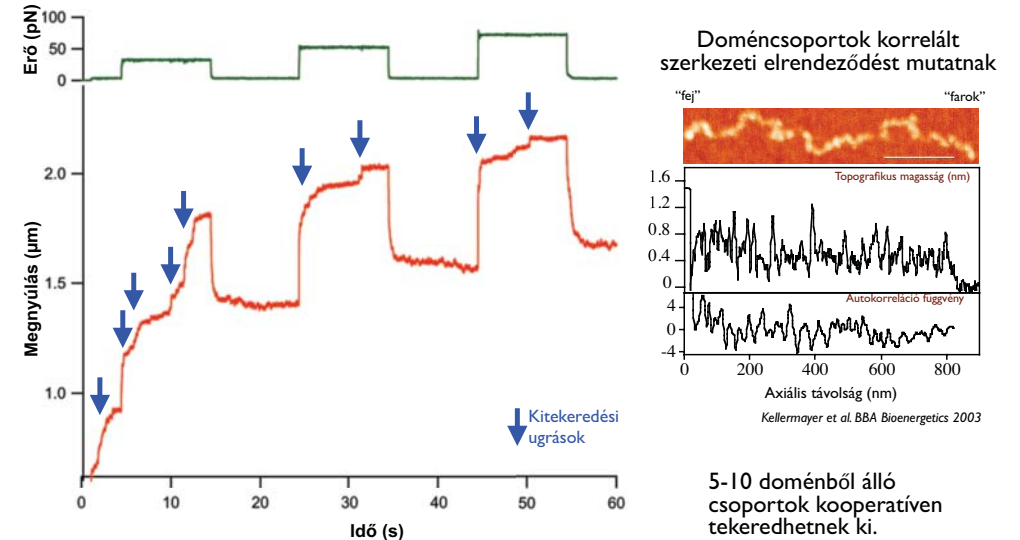
Konstans-erő kísérlet egyetlen titinmolekulán



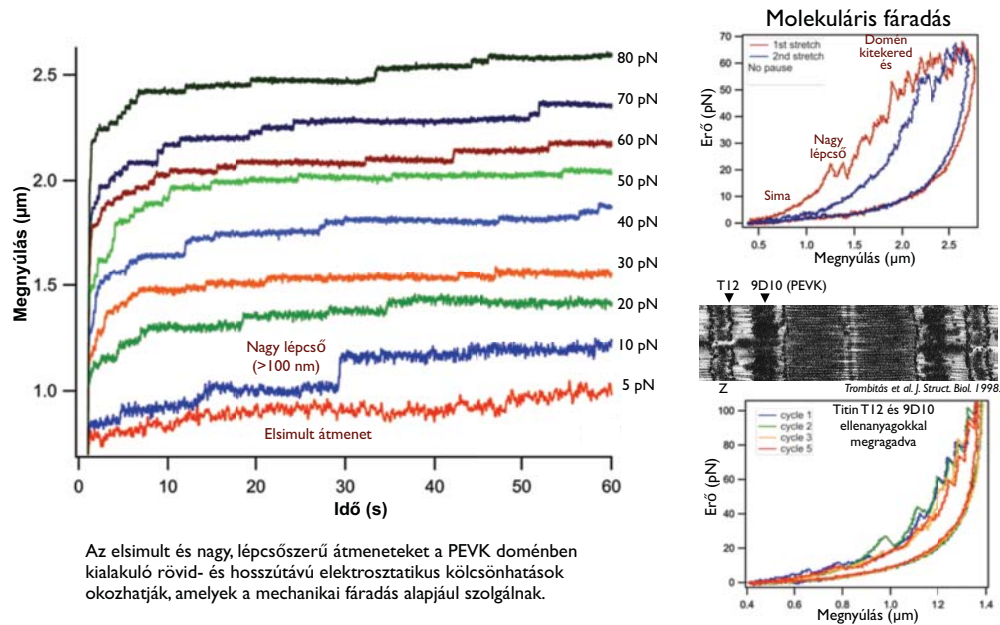
Titin kitekeredés konstans erőnél



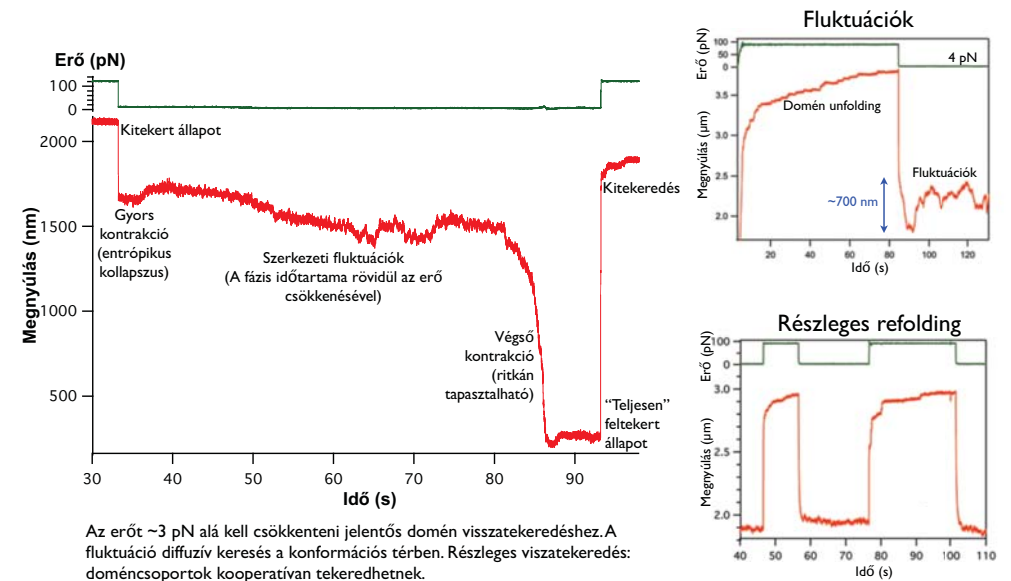
Doménkitekeredés hirtelen ugrásokban



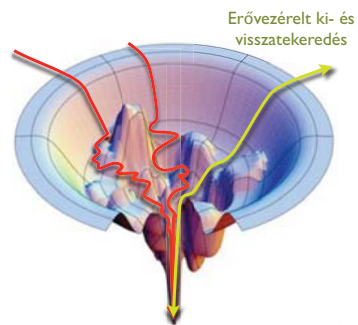
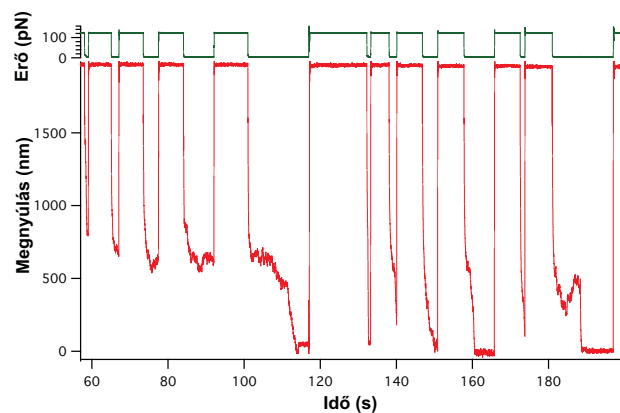
Szerkezeti átmenetek alacsony erőnél



Titin gombolyodás konstans erőnél



A visszatekeredési útvonal változatos még egyetlen molekula esetén is



Titinben:

- Kooperatív kitekeredés
- Mechanikai fáradás
- Diffúzív keresés a konformációs térben
- Kooperatív visszatekeredés
- Mechanikai erő és random fehérjeszakaszok modulálhatják a gombolyodás folyamatát