

DNS, RNS, FEHÉRJÉK

KELLERMAYER MIKLÓS

MAKROMOLEKULÁK BIOFIZIKÁJA

•Tér

Méret, alak, lokális és globális szerkezet

•Idő

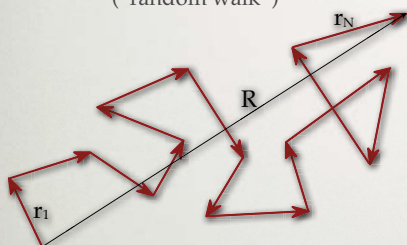
Fluktuációk, szerkezetváltozások, gombolyodás

•Kölcsönhatások

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

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

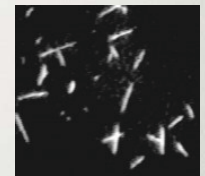
A GLOBÁLIS ALAK ÉS RUGALMASSÁG KÖZÖTT ÖSSZEFÜGGÉS VAN

l = perzisztencia hossz (hajlítómerevséget jellemzi)
 L = kontúrhossz

Merev lánc
 $l \gg L$



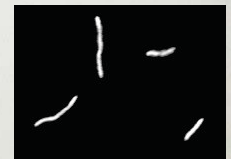
Mikrotubulus



Szemiflexibilis lánc
 $l \sim L$



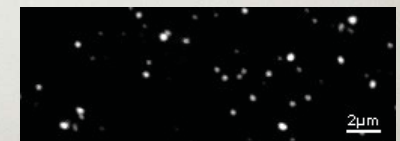
Aktin filamentum



Flexibilis lánc
 $l \ll L$



DNS molekula



ENTROPIKUS RUGALMASSÁG VIZUALIZÁLÁSA

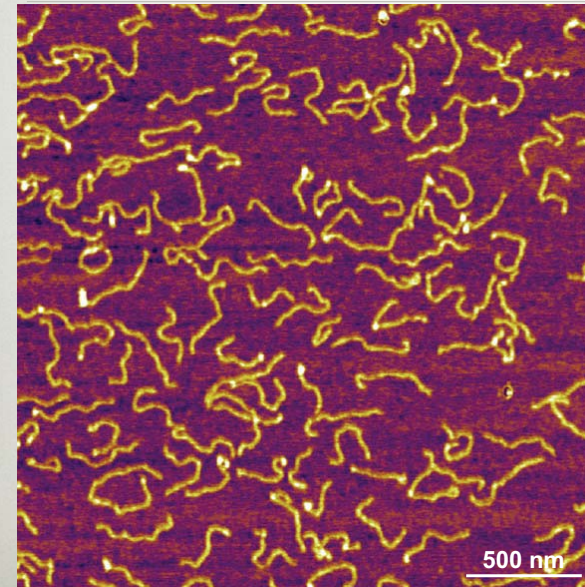
DNS molekula



Aktin filamentumok



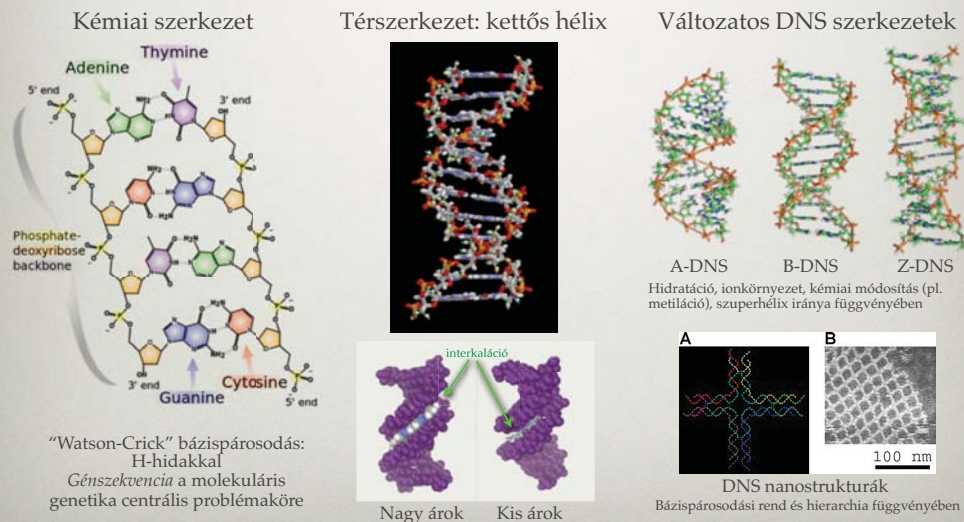
AZONOS POLIMER MOLEKULÁK (DNS) FELÜLETRE KITAPADVA



- Bár minden molekula elsődleges szerkezete (szekvenciája és hossza) azonos, alakjuk nem tökéletesen ugyanolyan.
- A molekulák alakja egy átlag körül ingadozik.
- A polimerlánc átlagos alakját az átlagos vég-vég távolsággal lehet jellemezni.
- Az átlagos vég-vég távolságot, adott kontúrhossz mellett, a polimerlánc hajlítási rugalmassága határozza meg.
- Az időbeli és térbeli átlagos alak megegyezik.

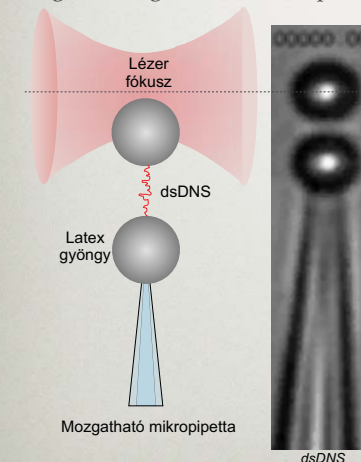
1. DNS: DEZOXIRIBONUKLEINSAV

Funkció: biológiai raktármemória molekulája

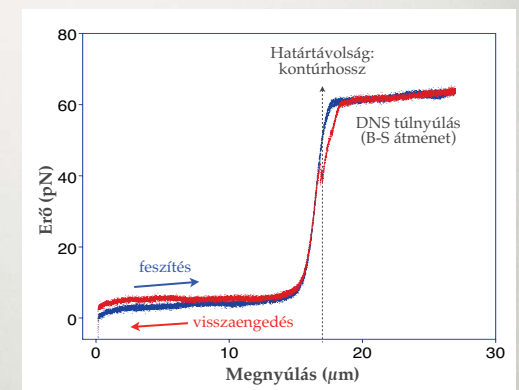


A DNS-MOLEKULA RUGALMAS!

Rugalmasságmérés: lézercsippessel

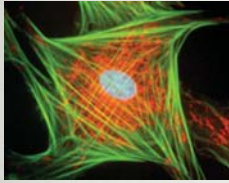


A dsDNS
rugalmas erőgörbéje



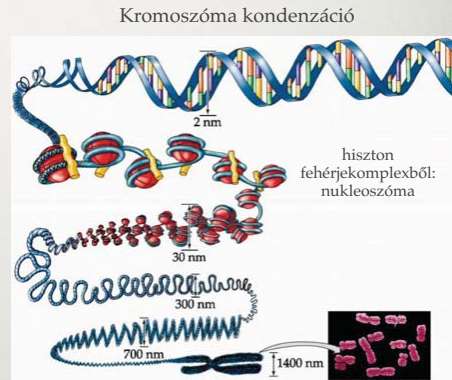
A dsDNS perzisztenciahossza ~50 nm
Benne ~65 pN-nál túlnyúlási átmenet

MENNYI DNS VAN A SEJT BEN?



Egyszerűsített sejtmodell: kocka

Megoldás: a DNS-t csomagolni kell



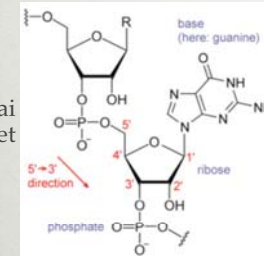
- Magas rendű DNS csomagolásban szerepet játszó fehérjék: kondenzinek
- DNS lánc: lineáris, bonyolult akadálypálya!

	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)

2. RNS: RIBONUKLEINSAV

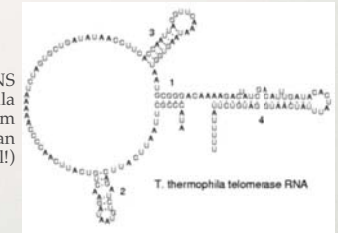
Funkció: információátvitel (transzkripció), szerkezeti elem (pl. riboszóma), szabályozás (génexpresszió ki-, bekapcsolása)

Kémiai szerkezet



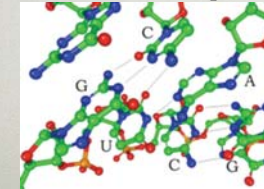
Cukor: ribóz
Bázisok: adenin, uracil, guanin, citozin

Az RNS molekula (nem párban áll!)



Másodlagos és harmadlagos szerkezetek

“Watson-Crick” bázispárosodás



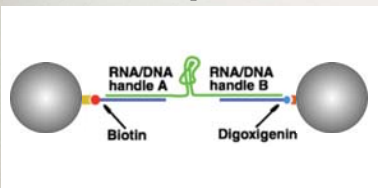
RNS hajtú (hairpin)



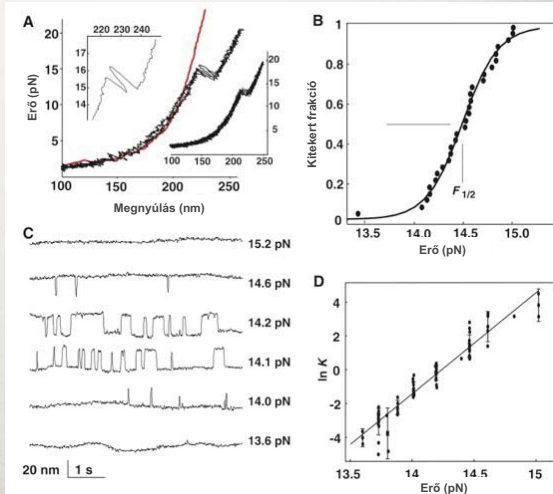
Komplex szerkezet (ribozim)

AZ RNS SZERKEZET MECHANIKAI ERŐVEL MEGBONTHATÓ

Mechanikai feszítés lézercsipesszel



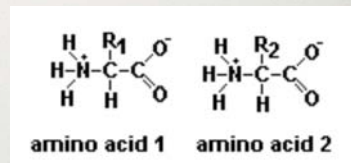
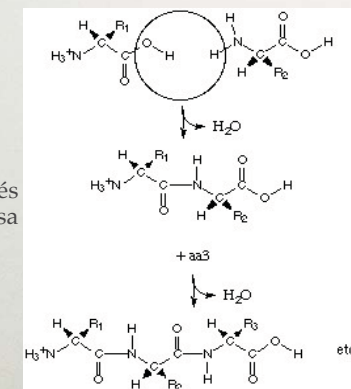
RNS hajtú mechanikai kitekerése: közel reverzibilis folyamat - az RNS hajtú gyorsan visszarendeződik



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

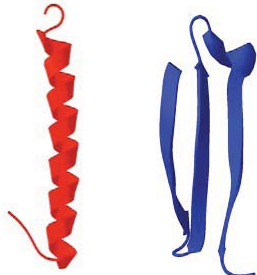
Elsődleges

Aminosav-sorrend

Meghatározza a térszerkezetet is

Másodlagos

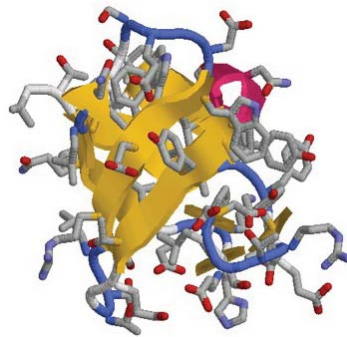
α -hélix
 β -lemez
 β -kanyar (hajtű)



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

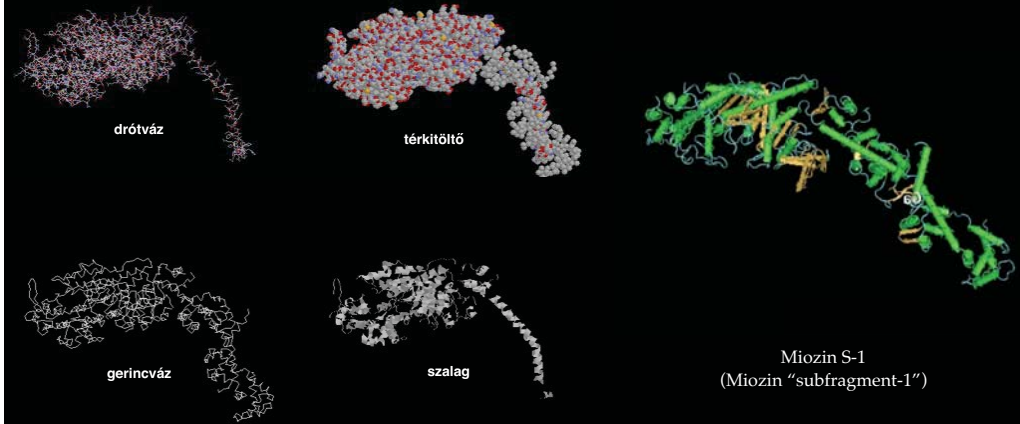
Harmadlagos

Egyláncú fehérje teljes térszerkezete



*Negyedleges szerkezet: önálló alegységek komplexbe kapcsolódása

FEHÉRJESZERKEZET MEGJELENÍTÉSE



Kémiai Nobel-díj 2013:



Martin Karplus



Michael Levitt



Arieh Warshel

FEHÉRJESZERKEZETET ÖSSZETARTÓ KÖLCSÖNHATÁSOK

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.
4. **Hidrofób-hidrofób kölcsönhatás:** hidrofób molekularészek között (molekula belsejében).

Kovalens kötés

5. **Diszulfid híd:** cisztein aminosavak között; egymástól távol levő láncokat kapcsol össze.

FEHÉRJESZERKEZETI OSZTÁLYOK

1. Tiszta alfa



calmodulin

2. Tiszta béta

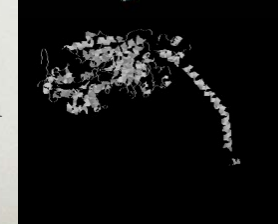


porin

(3. Alfa-béta)

4. Multidomén

Domén: fehérjegombolyodási "alegység"



miozin

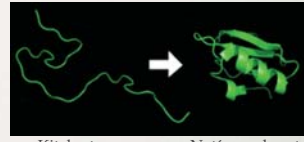
Bár ahány fehérje, annyi egyedi szekvencia, a térszerkezet alapján a fehérjék néhány fő osztályba sorolhatók!

HOGYAN ALAKUL KI A FEHÉRJE TÉRSZERKEZETE?



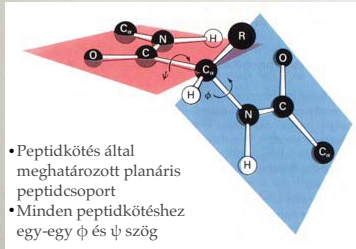
Christian Anfinsen
(1916-1995)

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



Kitekert állapot Natív szerkezet (N)
Legalacsonyabb energia

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

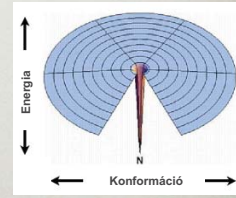


- Peptidkötés által meghatározott planáris peptidcsoport
- Minden peptidkötéshez egy-egy φ és ψ szög

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

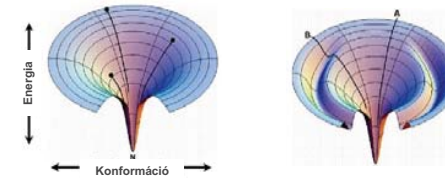
Pl.: 100 aminosavból álló peptidben a φ vagy ψ szögállások lehetséges száma legyen 2.
 $n=198$. Szabadsági fokok száma 2^{198} (!!!)



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

A FEHÉRJEGOMBOLYODÁST A KONFORMÁCIÓS TÉR ALAKJA VEZÉRLI

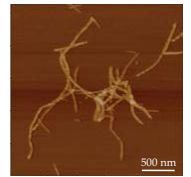
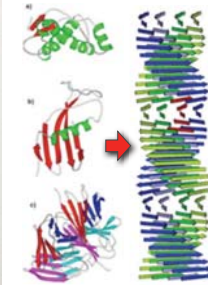
Konformációs tér: gombolyodási tölcser ("folding funnel")



- 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

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



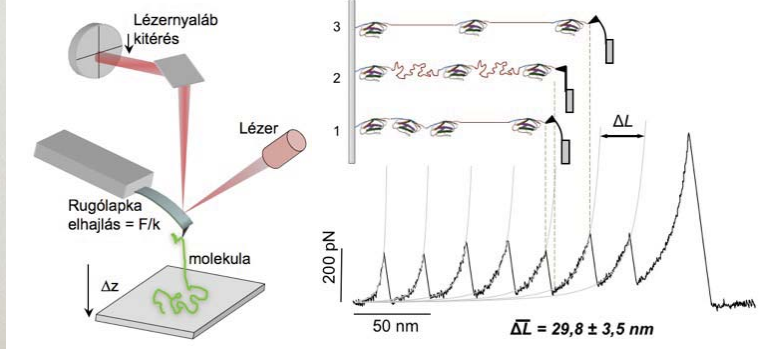
β-fibrillumok:
oldhatatlan precipitátum kereszt-β szerkezet

FEHÉRJEKITEKERÉSI MÓDSZEREK

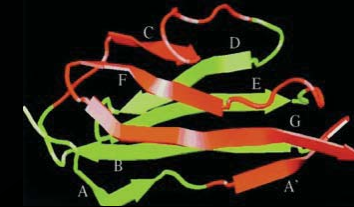
- Hő
- Kémiai ágens
- Mechanikai erő

Felszakítják a másodlagos kémiai kötések
Megbontják a másodlagos, harmadlagos szerkezetet

Egyetlen fehérjemolekula mechanikai kitekerése atomerőmikroszkóppal

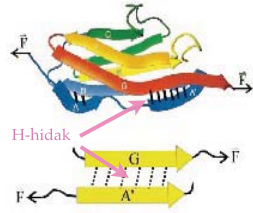


Titin Ig domének mechanikailag stabilak

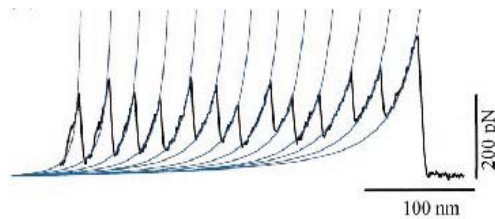


A mechanikai stabilitás biológiai logikája

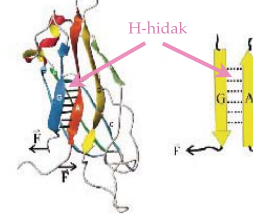
Szerkezetet összetartó H-hidak párhuzamos csatolása



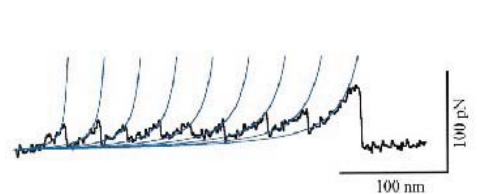
Nagy kiterjedési erő



Szerkezetet összetartó H-hidak soros csatolása

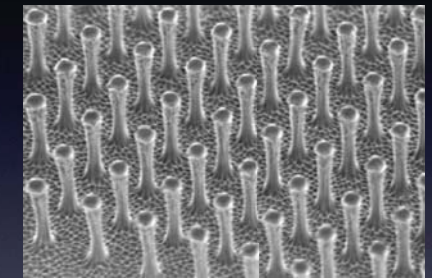


Alacsony kiterjedési erő



Makroszkópikus mechanikai stabilitás

Effektív ragasztóanyag a párhuzamos csatolás elvén



Mesterséges gecko talp
Nanotechnológiával készítve

Gecko talp felületi tapadása:
Párhuzamosan csatolt Van
der Waals kötések a serték
és a felület között