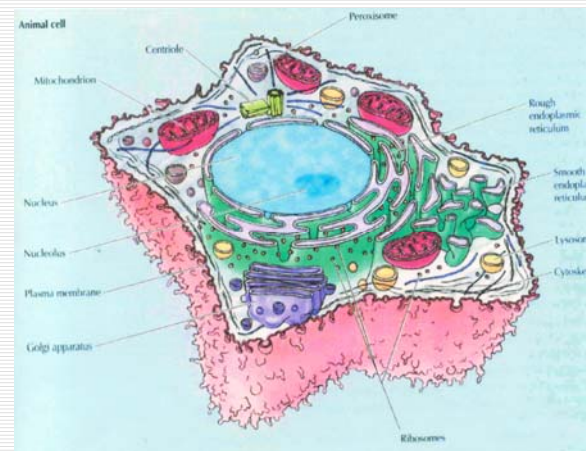


A makromolekuláris szerkezetet alakító kölcsönhatások és funkcionális jelentőségük.

Dr. Fidy Judit
professzor emeritus

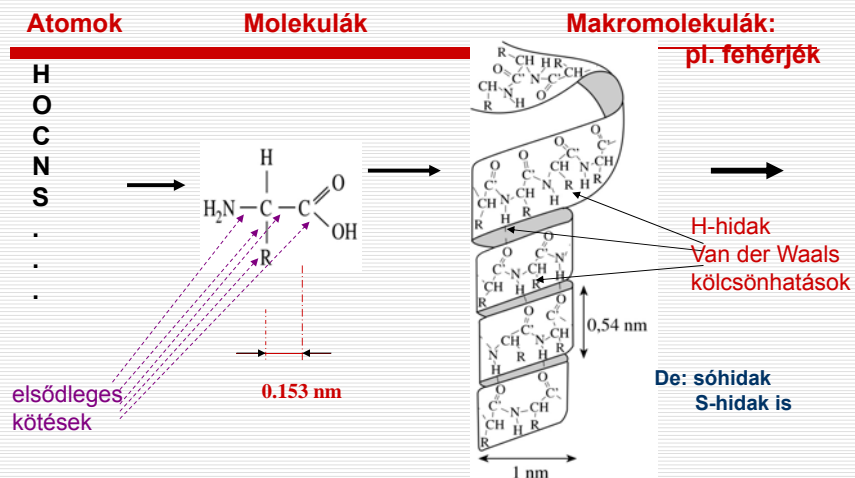
A szerkezeti rend kialakulásának szempontjai



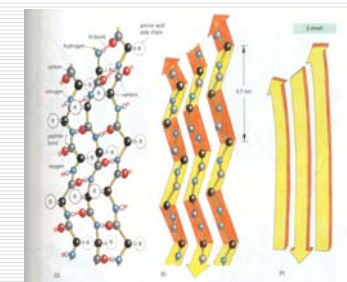
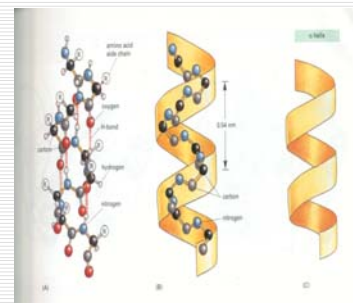
molekulák
makromolekulák
komplexek

**szigorú
de nem statikus
rendben**

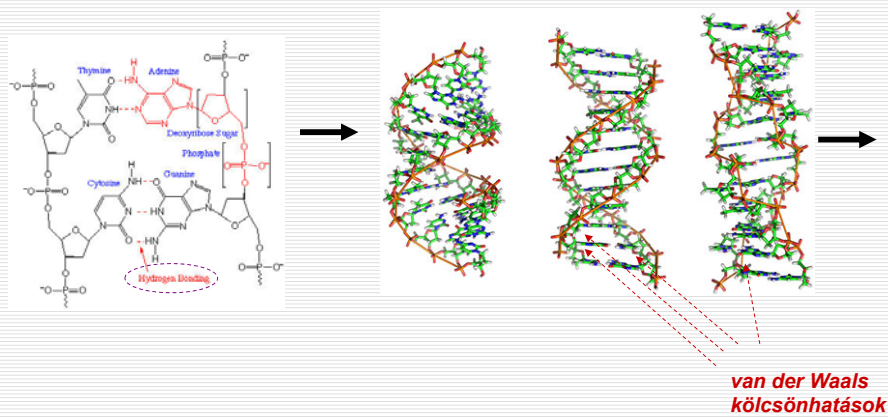
Biológiai rendszerek szerkezetét a kötések **hierarchiája** jellemzi



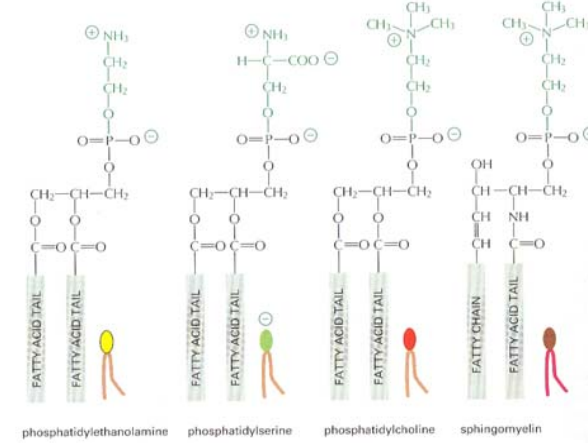
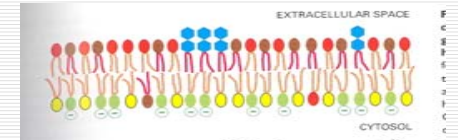
Fehérje másodlagos szerkezeti elemek: alfa helix, béta lemez



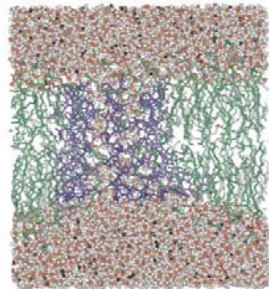
DNS kettős hélix szerkezetek



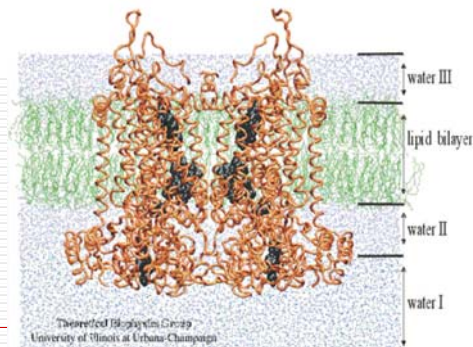
Kettős lipid-rétegek, biológiai membránok



Lipid-membránok komplexei fehérjékkel



Számítógépes szimuláció
eredményei



Molekulák közötti kölcsönhatások biológiai rendszerekben

Molekulaszerkezetek kovalens kötése \longrightarrow kémia ?

Elektrosztatikus kölcsönhatások 1. Coulomb kölcsönhatás

q_1 és q_2 ponttöltések r távolságban

potenciális energia

$$E_{cb} = \frac{q_1 * q_2}{\epsilon * r}$$

(relatív) dielektromos állandó

A relatív dielektromos állandó ϵ

(„dielektrikum”: elektromos tér áthatol az anyagon – Faraday)

Definíció: kondenzátor kapacitása alapján

fegyverzetek között vákuum $\rightarrow U_o$

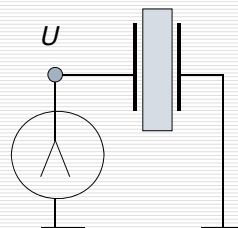
fegyverzetek között dielektrikum $\rightarrow U < U_o$

dielektrikum kivétele $U \rightarrow U_o$ ($q_o = q$)

$$C = \frac{q}{U}, \quad C_o = \frac{q}{U_o} \Rightarrow C > C_o$$

$$\epsilon = \frac{C}{C_o} = \frac{E_o}{E} > 1 \quad E = \frac{F}{q} \left[\frac{\text{Newton}}{\text{Coulomb}} = \frac{N}{C} \right] \text{elektromos térerősség}$$

A dielektrikum részecskéi polarizálódnak elektromos térben:
a fegyverzeteken tárolt töltés erőtere csökken

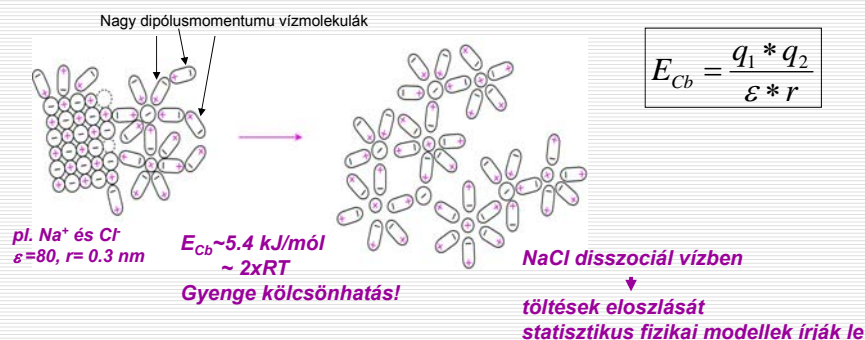


Két fontos közeg

víz
apoláros hidrokarbonok

ϵ
80
~2

Jelentősen módosítják az
elektrosztatikus kölcsönhatásokat



A Coulomb-potenciál termodinamikai értelmezése ionos oldatban

E_{cb} az elektrosztatikus tér munkáját adja meg **állandó hőmérsékleten és nyomáson** miközben a töltések távolsága végtelenről „r”-re változik

E_{cb} a **G Gibbs potenciál-változásnak felel meg** $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$
miért lehet a C_b -potenciálnak entropikus jellege?

Pl. vizes közeg

$$\Delta S = -\frac{\delta \Delta G}{\delta T} = \frac{\delta}{\delta T} \left(\frac{q_1 * q_2}{\epsilon * r} \right) = -\frac{q_1 * q_2}{\epsilon^2 * r} \frac{\delta \epsilon}{\delta T} = \Delta G \frac{1}{\epsilon} \frac{\delta \epsilon}{\delta T}$$

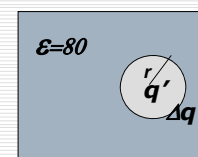
vízre: $-0.0046/K$
 $T\Delta S$ ($T=300K$) = **-1.38 ΔG**

Az entrópia-tag nagyobb, mint ΔG !

A C_b potenciál nemcsak a kötési energiát fedezi (ΔH), hanem az ionoknak a vízmolekulákat rendező (S csökken!) hatását is!

A Coulomb-potenciál-ból származtatott hidratációs energia

Born-energia



$$\delta G = \frac{q' * \delta q'}{\epsilon * r}$$

$$\Delta G = \frac{1}{\epsilon * r} \int_0^q q' dq' = \frac{q^2}{2\epsilon * r}$$

A végzett munka ha egy ϵ dielektromos állandójú közegbe (vízbe), egy r-sugarú üregbe (ionsugár) q töltést viszünk be \rightarrow **hidratációs energia**

Mekkora a végzett munka, ha egy iont (Na^+) vízből egy makromolekula v. lipid membrán belsejébe akarunk átvinni?

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G(\epsilon = 80) - \Delta G(\epsilon = 2) = -355 \text{ kJ/mol}$$

Nagy érték!
 $r=0.095 \text{ nm}$, ion-rádiusz

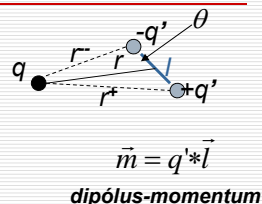
2. Dipól-kölcsönhatások

ponttöltés – dipól, dipól – dipól, statikus dipól, forgó dipól, indukált dipól

Egyszerű példa: ponttöltés – álló dipólus

$$E_{el.stat.} = -\frac{q' \cdot q}{\varepsilon \cdot r^-} + \frac{q' \cdot q}{\varepsilon \cdot r^+} \approx -\frac{q \cdot m \cdot \cos \theta}{\varepsilon \cdot r^2}$$

ha $l \ll r$



$$U = -\frac{q' \cdot q}{\varepsilon(r - \frac{1}{2}l \cos \theta)} + \frac{q' \cdot q}{\varepsilon(r + \frac{1}{2}l \cos \theta)} = -\frac{q' \cdot q l \cos \theta}{\varepsilon(r^2 - \frac{l^2}{4} \cos^2 \theta)}$$

erősebben csökken a távolsággal

Trend: minél bonyolultabb töltéeloszlások hatnak kölcsön, annál erősebben csökken az energia a távolsággal

Pl. két dipólus
+ orientációs mozgás

$$E_{MozgóDip-Dip} = -\frac{m_1^2 \cdot m_2^2}{3\varepsilon^2 \cdot r^6 \cdot kT}$$

szabad rotáció csökkenti a kh. erősségét és rövidíti a hatótávolságot

Setlow and Pollard: Molecular Biophysics, Chpt.6, Palo Alto, Addison-Wesley, 1962

Egy különleges dipól – kölcsönhatás

Diszperziós kölcsönhatás
van der Waals kölcsönhatás
(London-féle erő)

Alapjelenség:

a töltéeloszlás molekulákon belül az atomok gyors hőmozgása miatt fluktuál → tranziens töltésszeparációk

egymás közelében levő molekulák tranziens dipólusmomentuma kölcsönhat → indukció, taszítás, vonzás

a vonzó kölcsönhatás energiája alacsonyabb → nagyobb populáció
→ **eredőben vonzó kölcsönhatás**

molekulák polarizálhatósága

molekulák ionizációs energiája

$$E_{disp} = -\frac{1}{r^6} \frac{\alpha_1 \cdot \alpha_2}{3n^4} \frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2}$$

közeg törésmutatója

Eltérés a szabadon mozgó állandó dipólusok kölcsönhatásától →
távolság – függés hasonló, de **más paraméterek!**

Egy különleges dipól – kölcsönhatás

Diszperziós kölcsönhatás
van der Waals kölcsönhatás
(London-féle erő)

Megjegyzések:

-- α molekulák polarizálhatósága :

$$\vec{m} = \alpha \cdot \vec{E}$$

elektromos térerősség

-- ε helyett n

$$\varepsilon_{víz} \gg n_{víz} \Rightarrow E_{MozgóDipólok} \ll E_{Diszp}$$

-- formula érvényes, ha $r \gg l$

$$E_{disp} = -\frac{1}{r^6} \frac{\alpha_1 \cdot \alpha_2}{3n^4} \frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2}$$

Ezt a faktort nehéz általában elméletileg meghatározni, empirikus módszerekkel határozzák meg

-- speciális eset: hosszúkás alakú II hidrokarbon láncok
fehérjék, membránok lipidjei $E_{disp} \approx \frac{1}{r^5}$

Az elektrosztatikus kölcsönhatások potenciális energiájának távolság-függése, és átlagos energiája

Kölcsönhatás	Energia-függvény távolság-függése	Átlagos kölcsönhatási energia (kJ/mól)
ion-ion	\square	200 - 300
ion - álló dipólus	r^{-2}	10 - 20
álló dipólus – - álló dipólus	r^{-3}	1 - 2
dipólus – dipólus hőmozgás mellett	\square	0.3
diszperziós kölcsönhatás	\square	2

Hidrogén-hidas szerkezetek



elektronegatív pillératomok: O, N, F



Kölcsönhatás összetett: - kovalens
- elektrosztatikus - diszperziós

$d < \text{van der Waals rádiuszok összege}$

Nagysága széles tartományban fordulhat elő

3 - 4 kJ/mól \longrightarrow 80 - 100 kJ/mól
alifás szénhidrogének enzimatis katalízis

12 - 35 kJ/mól
biológiai makromolekulák

Víz - szerkezetek

	ΔH (kJ/mól)
$H_2O \cdots HOH$	
gáz	-23
folyadék	-14
jég	-12 -30

Rendkívüli tulajdonságok

Hidrogén-hidas szerkezetek

Biológiai makromolekulák térszerkezetének kialakulása

speciális szempontok: - kötéserősség függ a környezettől
- nem a ΔH hanem a ΔG vezérli

?



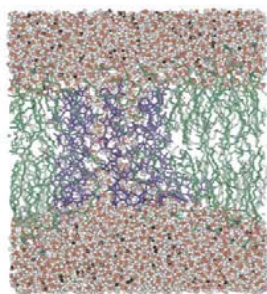
- amidok és karbonil csoportok erősen polárosak, de H-kötés csökkenti a polaritást \rightarrow H-kötések erősebbek a fehérjék és lipid membránok belsejében

- network - formációk: H-donor atom töltéeloszlása megváltozik \rightarrow nő az elektronegativitás \rightarrow jobb akceptor lesz \rightarrow víz-klaszterek kialakulása, H-kötések láncolata fehérjékben

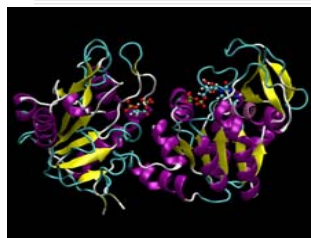
Weinhold, F. (1997) Nature of H-bonding in clusters, liquids and enzymes. J.Mol.Struct. 398, 181

Hidrofób kölcsönhatás

biológiai makromolekulák belső szerkezetében igen jelentős



loncsatorna-fehérje sejtmembránba ágyazva



foszfoglicerát kináz enzim víz-dobozban

Az apoláros szénhidrogén-láncok egymás felé fordulva a víz-molekulákkal való kölcsönhatásokat csökkentik - hidrofób effektus

Hidrofób kölcsönhatás - termodinamikai értelmezés

elv: szénhidrogének és víz kölcsönhatása energia-befektetést igényel

víz - víz dipól - dipól szénhidrogén - szénhidrogén diszperziós kh.

ERŐS

Mi hajtja a szegregációt?

víz - szénhidrogén keveredés: $\Delta H \geq 0$

Jellegzetes hőmérséklet-hatás

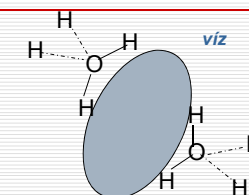
Magas $T \rightarrow$ diszperziós kh. erősödik

víz-orientáció gyengül

$\Delta S_{\text{szegr}} \sim \Delta S_{\text{oldott}}$, de $\Delta H < 0$

$\Rightarrow \Delta G = \Delta G_{\text{szegr}} - \Delta G_{\text{oldott}} < 0$

magas hőmérséklet: „H-driven”



Alacsony T (RT): A víz molekulák rendezett szerkezetet alakítanak ki egymással az apoláros molekula felületénél \rightarrow S csökken, de szegregációnál kevésbé, $\Delta H \sim 0$
 $\Delta G = \Delta H - T\Delta S = \Delta G_{\text{szegr}} - \Delta G_{\text{oldott}} < 0$

A szegregált és az elkeveredett állapot közötti különbség: szegregált állapotban a rendezésből eredő entrópia-változás kisebb

alacsony hőmérséklet: „S-driven”

Dill, K.A. (1990) Dominant forces in protein folding. Biochemistry 29, 7133

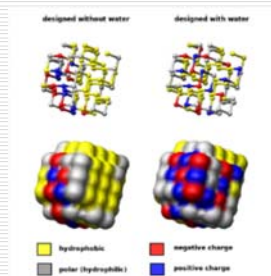
Hidratációs erők

Makromolekulák **felületi töltései** kölcsönhatnak víz-molekulákkal.

Molekula – molekula kölcsönhatáshoz a kötött vízmolekulákat le kell választani. A kötött víz-molekulák helyettesítése nagy energia-befektetést igényel. Rövid távú kh.

$$r_{\text{hydr}} \sim 0.1 r_{\text{el.sztat}}$$

Különösen jelentős: **fehérjéknél lipid membrán-felületeknél**



π elektron – kation kölcsönhatások

töltés – kvadrupól (két dipól) és
töltés – indukált dipól jelleg

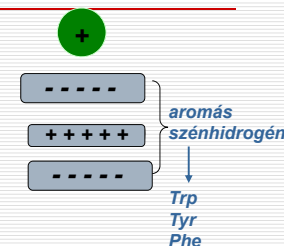
$$E_{kh} \approx -\frac{1}{r^3}$$

Vizes közeg kevésbé csökkenti mint a Cb-kh energiáját

$$E \xrightarrow{\text{víz}} 0.5 E$$

$$E_{Cb} \xrightarrow{\text{víz}} 0.05 E_{Cb}$$

$$\text{de } E \sim 0.25 E_{Cb}$$



Gallivan, J.P., Dougherty, D.A. (1999) Cation- π interactions in structural biology. PNAS 96, 9459 (2000) JACS 122, 870

Abeln, S., Frenkel, D. (2011) Accounting for protein-solvent contacts facilitates design of non-aggregating lattice proteins. Biophysical Journal, 100, 693

Kovalens (atomi/kémiai) kötések energetikai leírása

Harmonikus potenciállal közelítik a kötés egyensúlyi paramétereit közelében:

Harmonikus rezgés a kötés mentén

$$E_{\text{kov}} = \frac{1}{2} \phi (x - x_0)^2$$

egyensúlyi kötéstávolság

$$f = \sqrt{\frac{\phi}{m}}$$

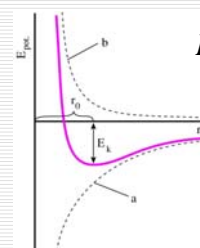
kötéserősség

mérése IR spektroszkópiával : $f \rightarrow \phi$

C – C kötés nyújtása : $\phi = 275 \times 10^3 \text{ kJ/mol(nm)}^2$
pl. 0.01 nm nyújtás $\rightarrow E > 10 \text{ RT}$

Hasonló harmonikus potenciálok a kötés – szögek függvényében is.
 \rightarrow kötések körüli elfordulások energiája $\sim \text{RT}$

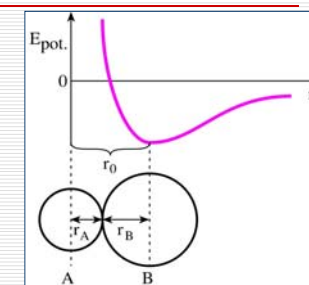
Eddig vonzó kölcsönhatások Kötések kialakulása: szterikus gátlás mellett



$$E_{\text{pot}} = \frac{B}{r^m} \quad \text{taszítás}$$

$$m > n$$

$$E_{\text{pot}} = -\frac{A}{r^n} \quad \text{vonzás}$$



Atomi rádiuszok értelmezése

r = kölcsönható részecskék távolsága
 r_0 = egyensúlyi kötéstávolság
 E_k = kötési energia

A kötéstávolság ($r_0 = r_A + r_B$) és kötési energia E_k a kölcsönhatási energiafüggvények konkrét függvény-alakjától függ (**a** és **b**)

Atomi rádiuszok különböző kölcsönhatásokban

Elem	Rendszám	Van der Waals sugár (nm)	Kovalens sugár (nm)	Ionsugár (nm)	Ion
H	1	0,120	0,037	–	H ⁺
C	6	0,170	0,077	0,029	C ⁺
N	7	0,155	0,075	0,025	N ⁺
O	8	0,152	0,073	0,140	O ²⁻
F	9	0,147	0,071	0,117	F ⁻
P	15	0,180	0,106	0,058	P ³⁺
S	16	0,180	0,102	0,184	S ²⁻

Szterikus gátlás a Pauli elv alapján:

Lennard – Jones potenciál

A **taszító** potenciált az elektronfelhők átlapolása okozza –
rövid hatótávolságú kölcsönhatás

A **vonzó** kölcsönhatást a diszperziós/van der Waals potenciál adja:

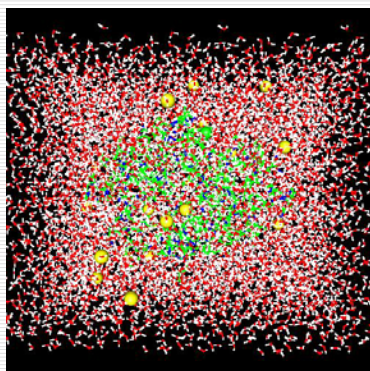
$$E_{L-J} = 4E_0 \left(\left(\frac{r_0}{r} \right)^{12} - \left(\frac{r_0}{r} \right)^6 \right)$$

Kötési energia

A makromolekulák szerkezete és komplex-képzése a
környezeti molekulákkal való kölcsönhatás jelenlétében
energia-minimum-állapotot jelent

Zöld: fehérje

44 kDa
tormaperoxidáz
enzim víz-ion
környezetben

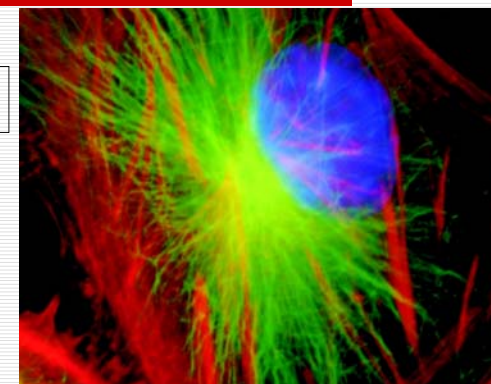


Sárga: ionok

Piros-fehér:
vízmolekulák

További szerveződés sejtes szinten
– „molecular crowding”

Piros: aktin
filamentumok



Kék:sejtmag

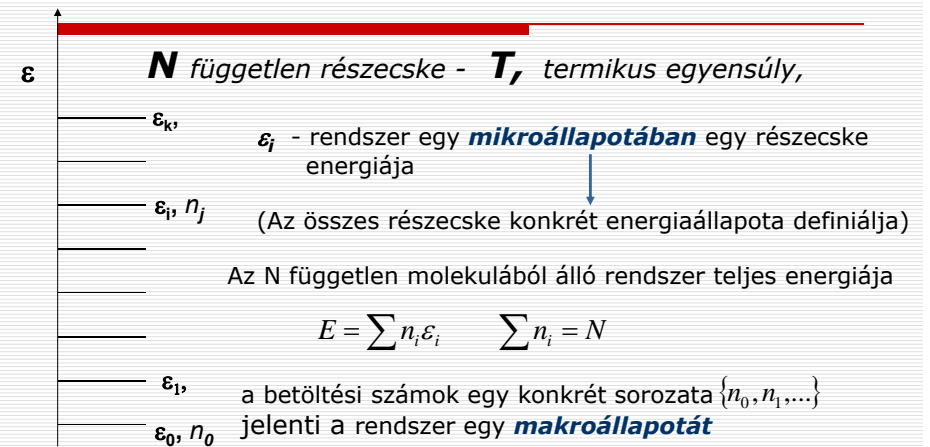
Zöld: microtubulusok

A biológiai folyamatokban az energia-minimum-elvek statisztikus jelleggel érvényesülnek.

Kötések folyamatosan felszakadnak és újraépülnek, a kötéserősségek hierarchiája alapján

„szerkezeti dinamika”

Boltzmann eloszlás



Boltzmann eloszlás

$$p_i = \frac{e^{-\frac{\varepsilon_i}{kT}}}{Z}$$

Boltzmann eloszlás – fontos összefüggések

Annak valószínűsége, hogy adott ε_i energiájú állapot a rendszerben megvalósul

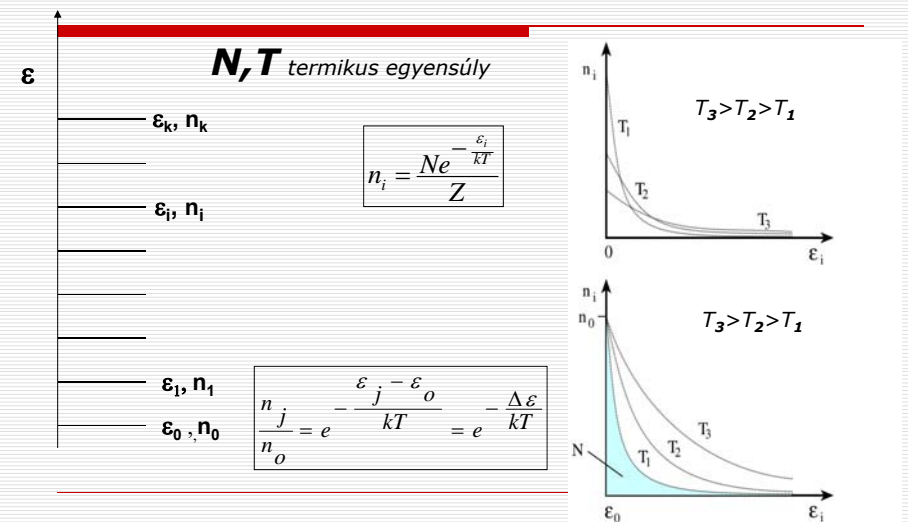
$$Z = \sum_i e^{-\frac{\varepsilon_i}{kT}} \quad \text{állapotösszeg}$$

$$n_i = \frac{N e^{-\frac{\varepsilon_i}{kT}}}{Z}$$

$$\frac{n_i}{n_0} = e^{-\frac{\varepsilon_i - \varepsilon_0}{kT}} = e^{-\frac{\Delta\varepsilon}{kT}} \quad \text{Boltzmann faktor}$$

Két energiaállapot relatív betöltöttsége

Boltzmann eloszlás – összhangban a tapasztalattal

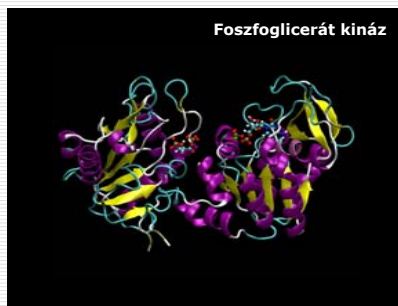


Mit értsünk a biológiai anyag „szerkezetén”?

Pl. makromolekuláris **konformáció** ?

Energia-minimum

igen sokféle kölcsönhatás



Röntgenkristallográfia
NMR

A konformáció sok „mikroállapot” időbeli és térbeli eredője
Hőmérsékletre érzékeny

Molekuláris/makromolekuláris szerkezetet kialakító kölcsönhatások

$E_k \sim$ **elsődleges kötések** : kovalens

ionos

fémcs

2 – 6

eV/kötés

$E_k \sim$ **másodlagos kötések**

H-híd 0.1 - néhányszor x **0.1**

Hidrofób kölcsönhatás **~ 0.1**

elektronvolt
1 eV= 23 kcal/mole ~
~ 100 kJ/mole

van der Waals dipól – ponttöltés **~ 0.1-0.2**

dipól – dipól **~ 0.02**

dipól– indukált dipól **~ 0.01**

időleges dipól **~ 0.02**
(diszperziós)

Szerkezeti rend testhőmérsékleten $T=310\text{ K}$

Kérdés: van-e olyan kötés a szerkezetben, ahol az energiaállapot a kötött állapothoz képest éppen a kötési energiával magasabb?

többször-energiával bíró
kötések száma

$$\frac{n}{n_{\text{kötött}}} = e^{-\frac{E_k}{kT}} \approx \frac{n}{N}$$

$kT \sim 0.027\text{ eV}$
 $RT \sim 2.6\text{ kJ/mol}$

$T=310\text{ K}$, $k=1.38 \times 10^{-23}\text{ J/K}$ Boltzmann állandó

$$kT \longleftrightarrow E_k$$

Szerkezeti rend testhőmérsékleten $T=310\text{ K}$

$$0.027\text{ eV} \longleftrightarrow E_k$$

többször-energiával bíró
kötések száma

$$\frac{n}{n_{\text{kötött}}} \approx e^{-\frac{E_k}{kT}} \approx \frac{n}{N}$$

Termikus okokból elsődleges kötések
nem szakadnak fel testhőmérsékleten

Elsődleges kötések $pl. E_k = 2.7\text{ eV}$

$$E_k \gg kT \quad \frac{n}{N} \approx e^{-\frac{2.7\text{ eV}}{0.027\text{ eV}}} = e^{-100} \approx 0$$

A szervezetet felépítő alpmolekulák szerkezete stabil

Szerkezeti rend testhőmérsékleten $T=310\text{ K}$

$$0.027\text{ eV} \longleftrightarrow E_k$$

Másodlagos kötések
H-hidak

$$pl. E_k = 0.1\text{ eV} \quad (1-7\text{ kcal/mole})$$

$$\frac{n}{N} \approx e^{-\frac{0.1\text{ eV}}{0.027\text{ eV}}} \approx e^{-3.7} = 2.46 \times 10^{-2} \approx 2.5\%$$

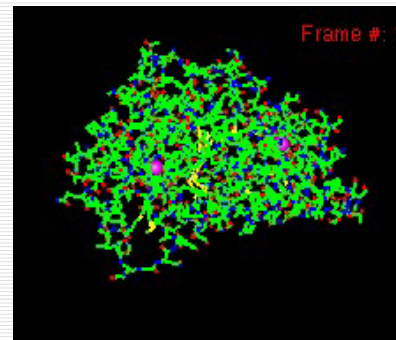
**Hidrofób kölcsönhatások,
van der Waals kölcsönhatások**

$$E_k \xrightarrow{\text{elsődleges} \rightarrow \text{van der Waals/diszperziós}} kT$$

**A másodlagos kötések jelentős számban
felszakadtak testhőmérsékleten \longrightarrow szerkezeti dinamika**

Termikus okokból elsődleges kötések
nem szakadnak fel testhőmérsékleten

A szerkezeti dinamika alapvetően fontos szerepet kap a
biológiai makromolekulák funkcionális kölcsönhatásaiban



tormaperoxidáz enzim
nanosecundum-os időtartomány



foszfogllicerát kináz enzim
millisecundum-os időtartomány

Eddig hangzott el előadáson.
2014. Február 19

A Boltzmann eloszlás figyelembevétele az energetikai
megfontolásokban: **az elektrosztatikus potenciál leírása
a Poisson – Boltzmann egyenlettel**

Poisson-egyenlet : ponttöltések és dipólusok helyett általános
töltéssűrűség-eloszlásnak megfelelő potenciál-függvényre (φ):

$$\nabla^2 \varphi(\vec{r}) = -\frac{4\pi}{\epsilon} \rho(\vec{r}) \quad [\text{cgs}]$$

Egy referencia-töltéshez (ponthoz) viszonyított helyzetvektor

Töltés-sűrűség-eloszlás

$$\rho(\vec{r}) = q_e * N_{Av} * \sum_i z_i * c_i(\vec{r})$$

Ion-koncentráció Mól/l

Ponttöltés által végzett munka a φ potenciáltérben

$$\Delta E = q * U = q * (\varphi_2 - \varphi_1)$$

$c_i(\infty) = \text{bulk konc. ahol } \varphi(\infty) = 0$

Boltzmann-eloszlás figyelembe-vétele:

$$\frac{c_i(\vec{r})}{c_i(\infty)} = e^{-\frac{q_e * z_i * \varphi(\vec{r})}{kT}}$$

$$\Delta f = \nabla^2 f(r) = \sum \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial z^2}$$

A Boltzmann eloszlás figyelembevétele az energetikai megfontolásokban: az elektrosztatikus potenciál leírása a Poisson – Boltzmann egyenlettel

$$\nabla^2 \varphi(\vec{r}) = -\frac{q_e * N_A}{\varepsilon} \sum_i z_i * c_i(\infty) e^{-q_e * z_i * \varphi(\vec{r}) / kT}$$

Poisson-Boltzmann-egyenlet

Megoldása egy olyan $\varphi(r)$ elektromos potenciál-függvény, ami figyelembe veszi az ionok árnyékoló hatását

Pl. egyszerűbb esetre: az el.sztatikus kölcsönhatás gyakran gyenge

$$q * z * \varphi(r) \ll kT \rightarrow e^x \text{ fgvsorbafejtethető}$$

$$\nabla^2 \varphi(\vec{r}) = -\frac{q_e * N_A}{\varepsilon} \sum_i z_i * c_i(\infty) e^{-q_e * z_i * \varphi(\vec{r}) / kT} \approx -\frac{q_e * N_A}{\varepsilon} \sum_i z_i * c_i(\infty) (1 - q_e * z_i * \varphi(\vec{r}) / kT)$$

Mivel a referencia pontban az oldat neutrális: $\sum q_e * z_i * c_i(\infty) = 0$

$$\nabla^2 \varphi(\vec{r}) = -\frac{q_e^2 * N_A}{\varepsilon * kT} \sum_i z_i^2 * c_i(\infty) * \varphi(r)$$

**Linearizált
P.-B. egyenlet**

**Debye –távolság
(ionok árnyékoló hatása)**

$$I = \frac{1}{2} \sum z_i^2 c_i(\infty) \quad \text{ionerő}$$

$$\frac{1}{\lambda_D^2} = \frac{2q_e^2 * I}{\varepsilon * kT}$$

$$\nabla^2 \varphi(r) = \frac{1}{\lambda_D^2} \varphi(r)$$

Debye-távolság: ezen belül az elektrosztatikus kölcsönhatást tekintetbe kell venni, nagyobb távolságoknál már az ionok árnyékolása miatt elhanyagolható

Ajánlott irodalom:

Meyer B. Jackson: Molecular and Cellular Biophysics
2006, Cambridge University Press

Damjanovich, Fidy, Szöllősi: Orvosi Biofizika
2008, Medicina