

AZ ÉLŐ SEJT FIZIKAI BIOLÓGIÁJA I.

KELLERMAYER MIKLÓS

SEMMELWEIS EGYETEM
BIOFIZIKAI ÉS SUGÁRBIOLÓGIAI INTÉZET

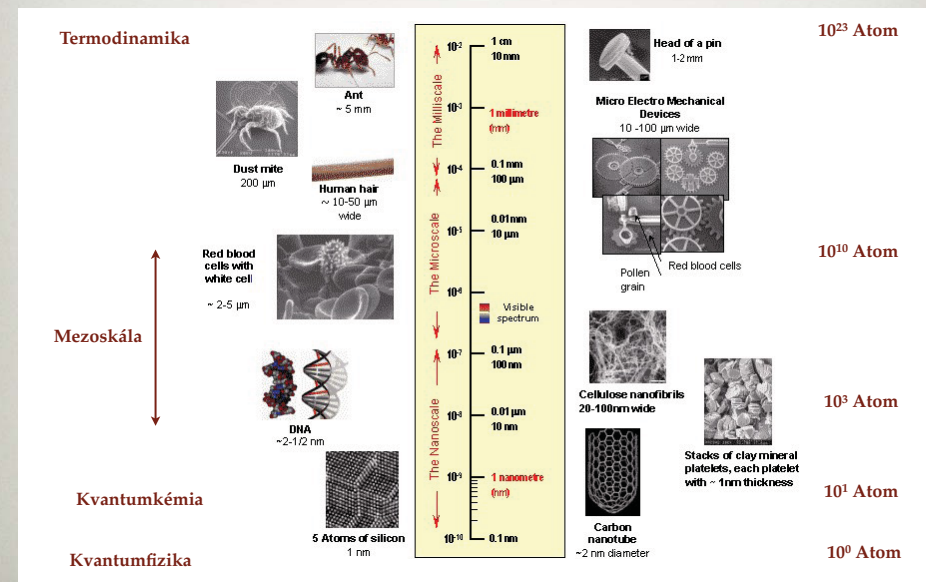
AZ ÉLŐ SEJT FIZIKAI BIOLÓGIÁJA I.

- Február 12. Fehérjék szerkezeti hierarchiája (Dr. Smeller László)
- Február 19.) Fehérjék szerepe az élő rendszerekben és a nanotechnológiában (Dr. Kellermayer Miklós)
- Február 26. Fehérjék stabilitása: stabilitási fázisdiagram, extrém körülmények, termofil és piezofil enzimek (Dr. Smeller László)
- Március 5. Fehérjék szerkezetvizsgálati módszerei: IR, CD (Dr. Smeller László)
- Március 12. Fehérjék szerkezetének kialakulása in vivo és in vitro: Levinthal paradoxon, fehérje gombolyodás, intermedier állapotok, landscape modellek (Dr. Osváth Szabolcs)
- Március 19. Fehérjék szerkezetének kialakulása in vivo és in vitro: hibásan tekeredett fehérjeszerkezetek, amiloid fibrillumok, konformációs betegségek (Dr. Osváth Szabolcs)
- Március 26. Fehérjék szerkezetének és funkciójának mikroszkópi vizsgálat (Dr. Osváth Szabolcs)
- Április 16. Fehérjék szerkezetvizsgálati módszerei: fluoreszcencia, FRET, foszforeszcencia, stopped-flow, quenched-flow (Dr. Kellermayer Miklós)
- Április 23. Fehérjék sejtbeli funkciójának tanulmányozása modern mikroszkópos módszerekkel (Dr. Osváth Szabolcs)
- Április 30. Fehérjék biológiai aktivitásának egyedi molekula szintű vizsgálata (Dr. Kellermayer Miklós)
- Május 7. Dinamikus fehérjeszerkezetek a sejtben (Dr. Kellermayer Miklós)
- Május 14. Konzultáció (Dr. Osváth Szabolcs)

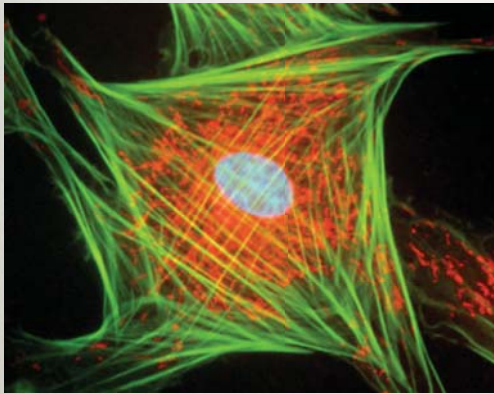
BEVEZETÉS

- A természet méretskálája
- Az élő sejt méretskálája
- Biopolimérek
- Fehérjék - bevezetés
- Fehérjék szerepe az élő rendszerekben
- Nanovilág, nanotudományok
- Nanotechnológiai elvek (top-to-bottom, bottom-up)
- Nanobiotechnológia, fehérjék a nanotechnológiában

A TERMÉSZET MÉRETSKÁLÁJA



A SEJT MÉRETSKÁLÁJA



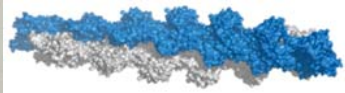
Egyszerűsített
sejtmodell: kocka



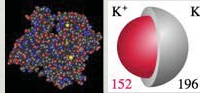
	Sejt: 20 μm oldalalú kocka	Analógia - Tanterem: 20 m oldalalú kocka
Aktinmolekula mérete	5 nm	5 mm
Aktinmolekulák száma	~500 ezer	~500 ezer
Aktin átlagos távolsága	~250 nm	~25 cm
Kálium ion mérete	0.15 nm	0.15 mm
Kálium ionok száma	~ 10^9	~ 10^9
Kálium ionok átlagos távolsága	~20 nm	~2 cm

A modell hiányosságai:

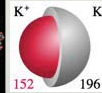
- a koncentrációk lokálisan változnak
- dinamika: állandó mozgás, ütközés
- kölcsönhatások, a dinamika miatt sokféle



Aktin filamentum (d=7 nm)

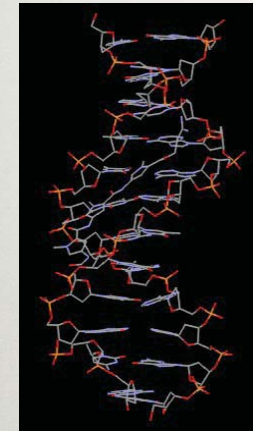


G-aktin
(d=5 nm,
cc~100 μM)

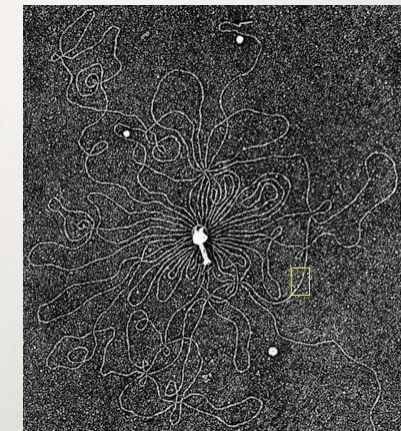


Kálium ion
(d=0.15 nm,
cc~150 mM)

BIOPOLIMÉREK: **HATALMAS** MOLEKULÁK

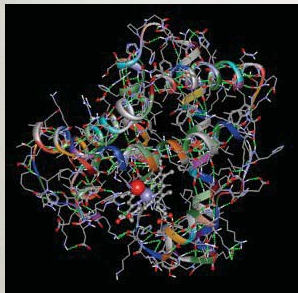


DNS dupla hélix

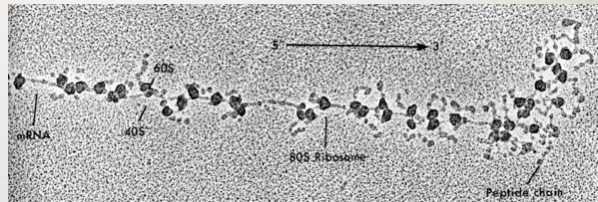


Bakteriófágból kiszabaduló DNS fonal

BIOPOLIMÉREK: **IZGALMAS** MOLEKULÁK

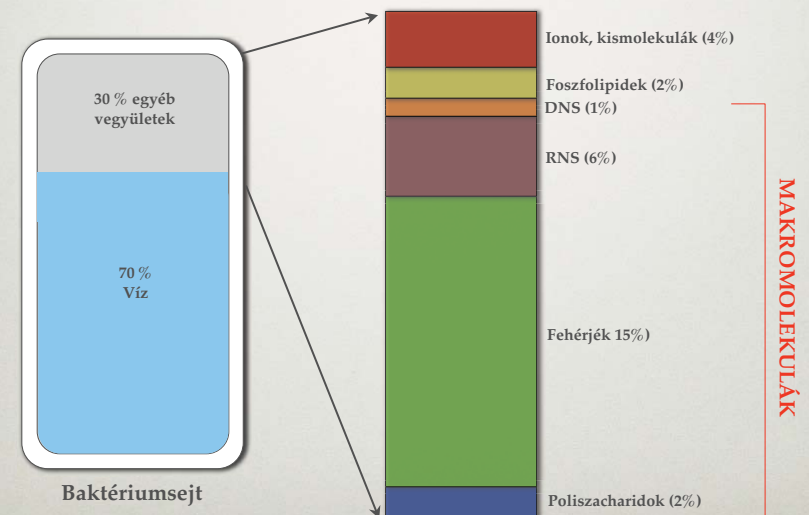


Hemoglobin alegység
térszerkezeti modellje



Újonnan termelődő fehérje
(selyemfibroin)

A BIOPOLIMER MOLEKULÁK TÖMEG SZERINTI MENNYISÉGE A SEJT BEN **NAGY**



BIOLÓGIAI MAKROMOLEKULÁK: BIOPOLIMÉREK

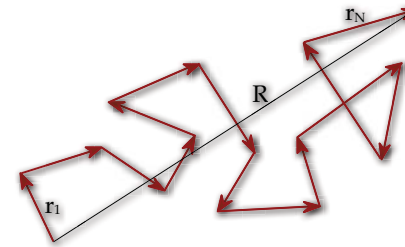
Polimérek:
Építőkövekből, monomerekből felépülő láncok

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

Biopolimer	Alegység	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

Brown-mozgás - "random walk"



"Négyzetgyök törvény":

$$\langle R^2 \rangle = Nl^2 = Ll$$

R = vég-vég távolság

N = elemi vektorok száma

$l = |\vec{r}_i|$ = korrelációs hossz

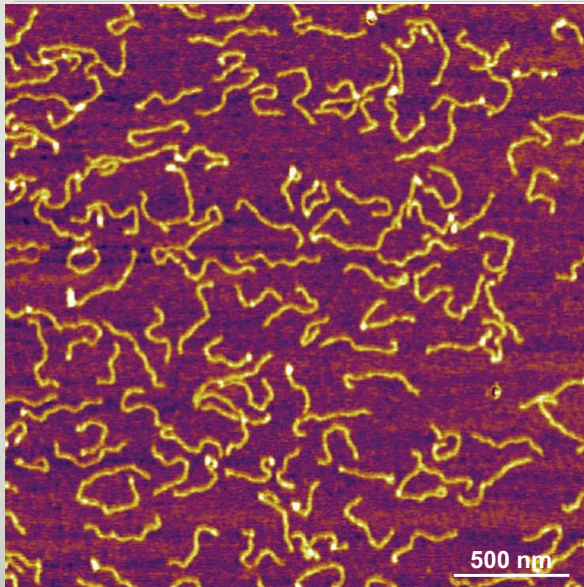
r_i = elemi vektor

$Nl = L$ = kontúrhossz

l összefüggésben van a hajlítómerevséggel.

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

AZONOS POLIMER MOLEKULÁK (DNS) FELÜLETRE KITAPADVA

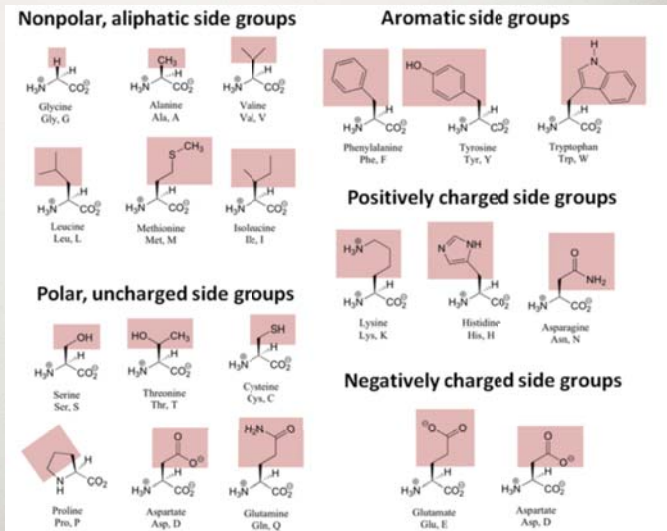
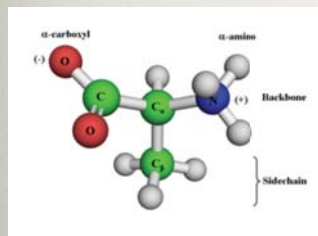


- Bár minden molekula elsődleges szerkezete (szekvenciája és hossza) azonos, alakjuk nem tökéletesen ugyanolyan.
- A molekulák alakja egy átlag körül ingadozik.
- A polimerlánc átlagos alakját az átlagos vég-vég távolsággal lehet jellemezni.
- Az átlagos vég-vég távolságot, adott kontúrhossz mellett,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

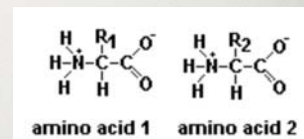
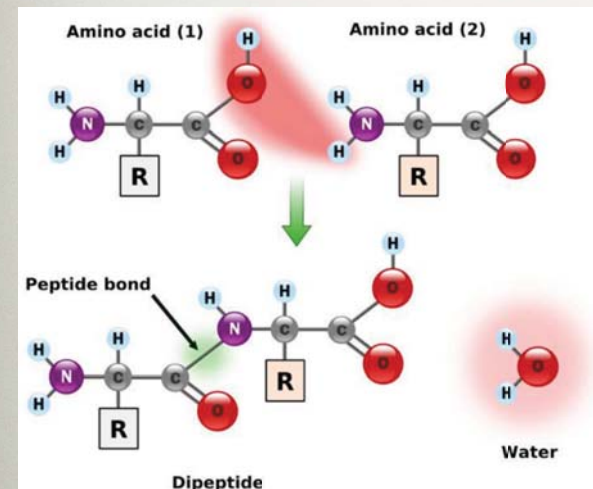
FEHÉRJÉK SZEREPE AZ ÉLŐ RENDSZEREKBEN

- Kémiai katalízis
- Transzport
- Energia átalakítás, tárolás
- Koordinált mozgás
- Mechanikai váz
- Immunválasz
- Molekuláris felismerés
- Információ továbbítás
- Génreguláció
- Növekedés, differenciálódás

FEHÉRJÉK: AMINOSAV BIOPOLIMÉREK



FEHÉRJÉK: PEPTID KÖTÉSSEL EGYBEKAPCSOLT BIOPOLIMÉREK



Víz felszabadulással járó kondenzációs reakció

A peptidkötés és kialakulása

FEHÉRJÉK SZERKEZETE

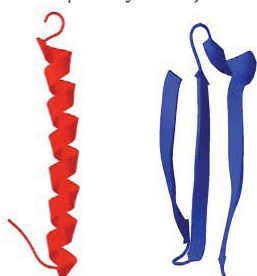
Elsődleges

Aminosav-sorrend

Meghatározza a térszerkezetet is

Másodlagos

α-hélix
β-lemez
β-kanyar (hajtű)

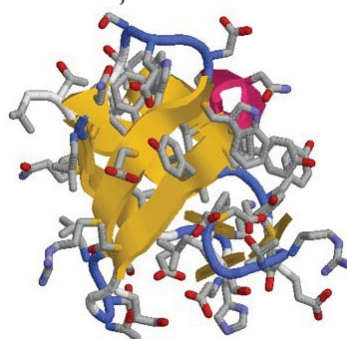


α-hélix:
• jobbmenetes
• 3.4 aminosav/emelkedés
• H-hidak

β-lemez:
• párhuzal v. antipárhuzal
• H-hidak távoli aminosavak között

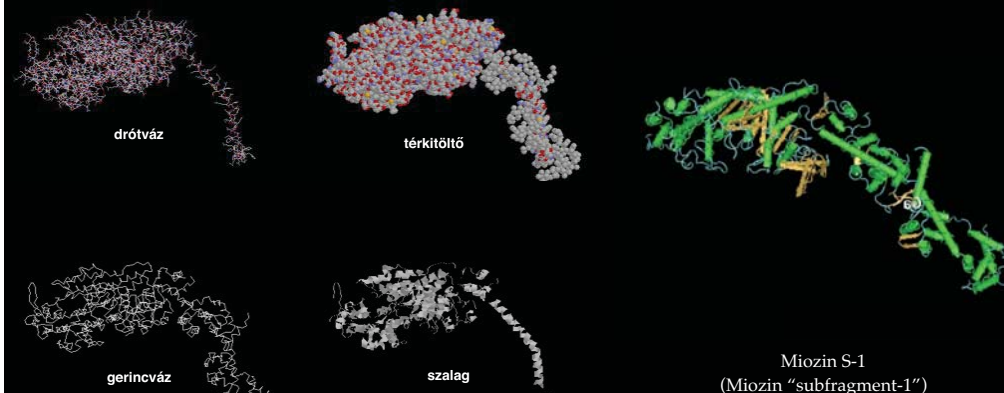
Harmadlagos

Egyláncú fehérje teljes térszerkezete



*Negyedleges szerkezet: önálló alegységek komplexbe kapcsolódása

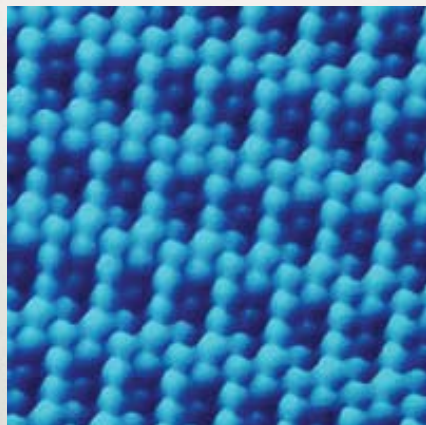
FEHÉRJESZERKEZET MEGJELENÍTÉSE



Kémiai Nobel-díj 2013:



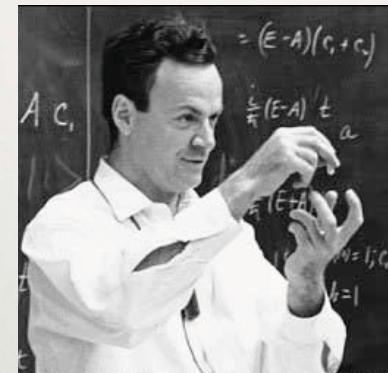
A NANOVILÁG LÉPTÉKE



Oxigén atomok
rhodium egykristály
felületén

1 nanométer

NANOTUDOMÁNY RÖVID TÖRTÉNETE



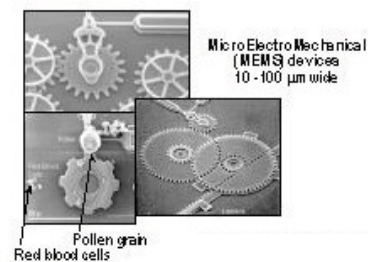
- 1959: Richard P. *Feynman* "There is plenty of room at the bottom"
- 1974: Norio Taniguchi "nanotechnológia"
- 1986: Eric Drexler: Engines of Creation

MI A NANOTECHNOLÓGIA?

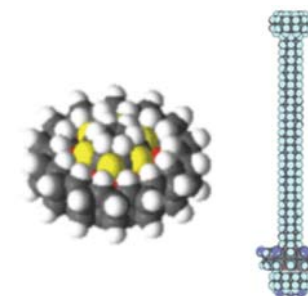
- A nanotechnológia az anyag megértése és manipulálása az 1-100 nanométeres méretskálán, ahol új és egyedi jelenségek lépnek fel és új alkalmazások kínálkoznak.
- A nanotudomány, nanométernöki diszciplínák, nanotechnológia az anyag fenti méretskálán történő képalkotását, mérését, modellezését és manipulálását takarja.

NANOTECHNOLÓGIAI ELVEK

Top-to-bottom:
Miniaturizálás



Bottom-up:
Gépek építése atomonként

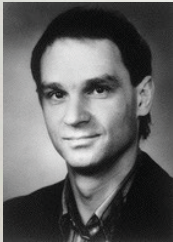


0 ps

Vizualizálás a nanoskálán

Pásztázó tűszondás mikroszkópok

Nobel-díj 1986



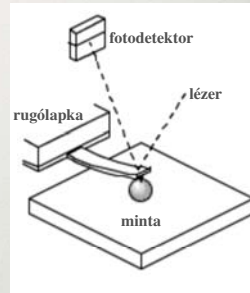
Gerd Binnig



Heinrich Rohrer

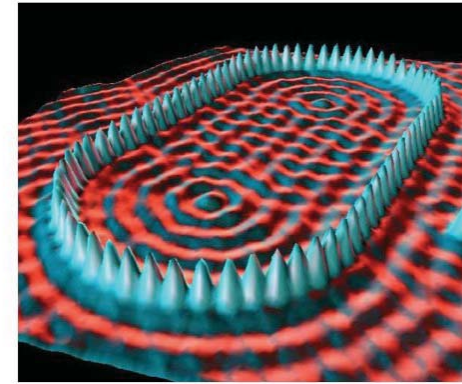


Ernst Ruska



Vizualizálás a nanoskálán

Pásztázó alagúteffektus mikroszkóp



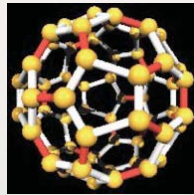
STM: elektronszerkezetet lehet vizualizálni. Az elektronokat 48 vasatom veszi körül, amelyeket egyenként pozícionáltak ugyanazzal az STM készülékkel, amellyel a képalkotás is történt (IBM Almaden research laboratory, California).

NANORÉSZECSKÉK

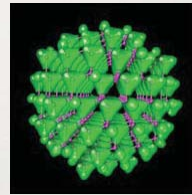
Speciális tulajdonságú részecskék, melyek az 1-100 nanométeres mérettartományba esnek.



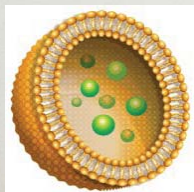
Szén nanocső



Fullerén



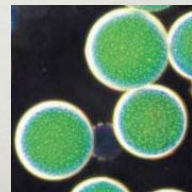
Kvantumpont



Liposzóma



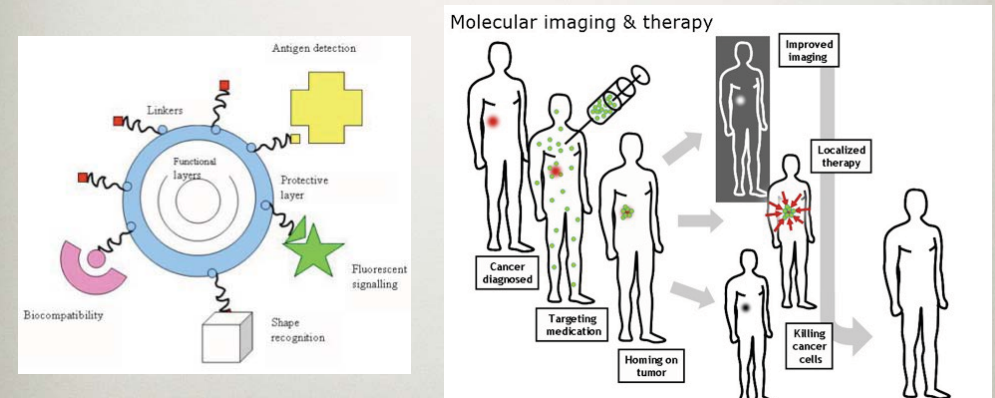
Polimer nanorészecske



Vasoxid nanorészecske

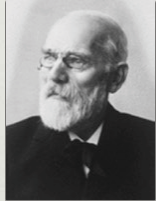
NANORÉSZECSKÉK ORVOSI ALKALMAZÁSA

1. Diagnosztika
2. Terápia



TERMÉSZETES NANOTECHNOLÓGIA

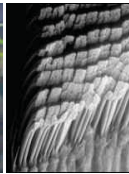
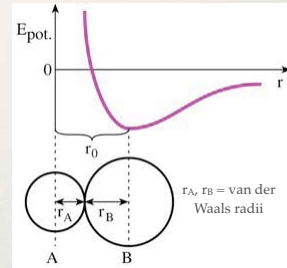
- Van der Waals erők: lezárt elektronhéjú atomok közötti gyenge kölcsönhatás.
- Diszperziós erők, London erők.



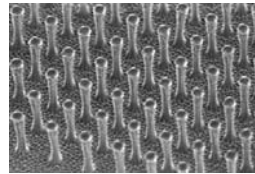
Jan Diderik van der Waals
(1837-1923), Nobel prize 1910



Fritz London (1900-1954)

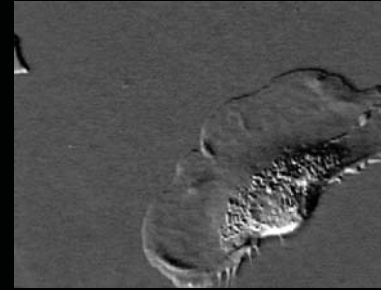


Gecko láb
tapadás:
Serték (setae)
páruzamosan
csatolva



Meterséges
gecko láb

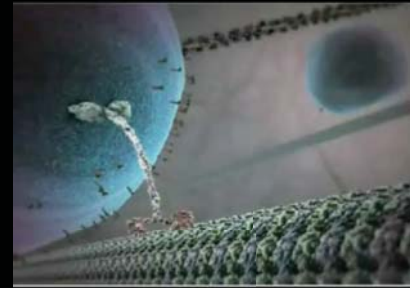
Az élő sejtekben: komplex nanorészecskék, bonyolult nanomotorok



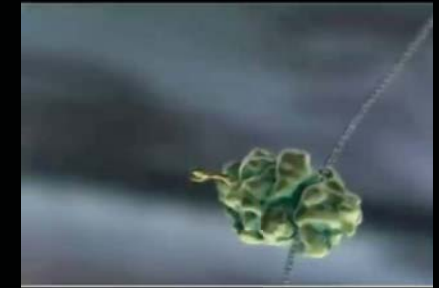
Tovaküsző keratinocita



Mikrotubulus dinamikus instabilitás



Vezikulum transzport kinezzel

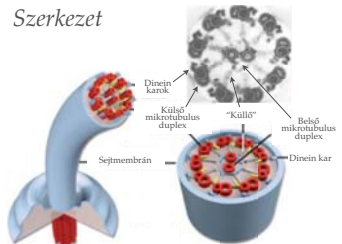


Fehérjesszintézis riboszómán

<http://multimedia.mcb.harvard.edu>

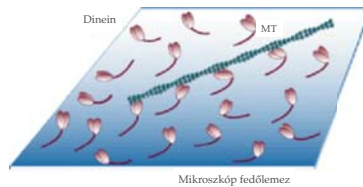
ÉPÍTKEZÉS NANOMOTOROKBÓL

Szerkezet

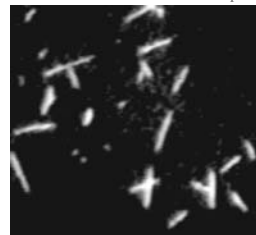


Lépés: 8 nm
(Minden második tubulin
alegység közötti távolság)

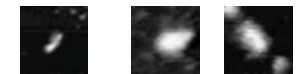
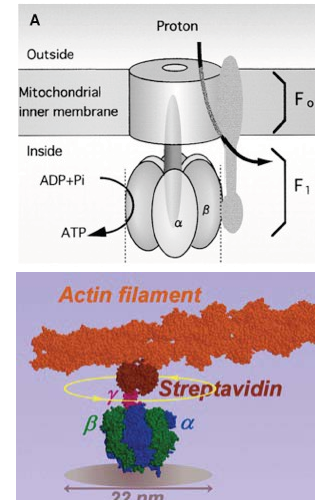
Biomolekuláris funkcionális modell: "In vitro motilitási próba"



Fluoreszcencia videomikroszkópia

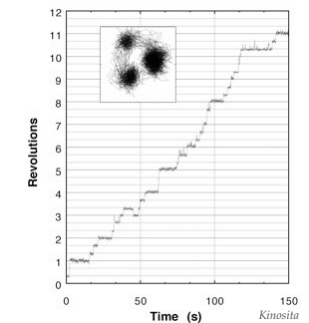


Nanopropeller F1F0 ATPázból

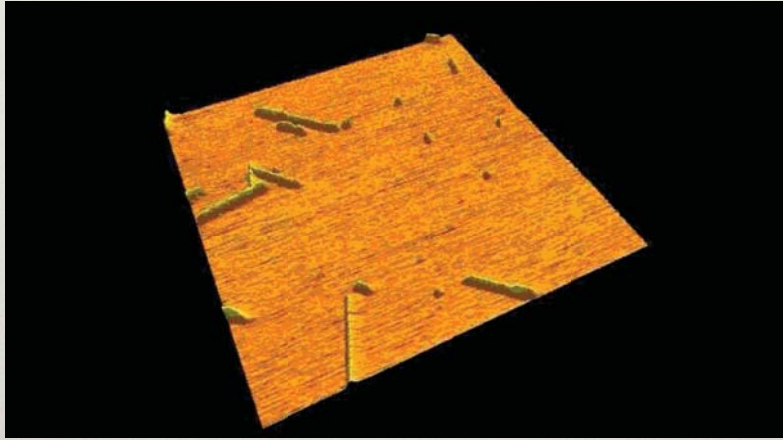


20 nM ATP 200 nM ATP

Diszkrét 120° rotációs lépések



ÖNSZERVEZŐDŐ NANOHALÓZAT



Amyloid β 25-35 peptidből csillámfelületen spontán kialakuló hálózat (egyedi rostok átmérője ~1 nm)