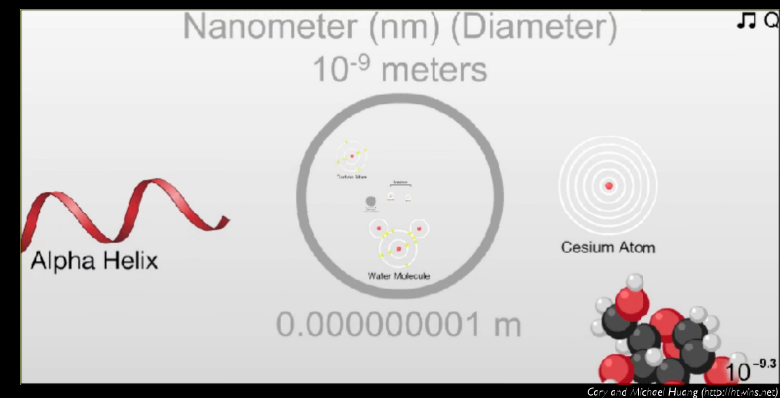


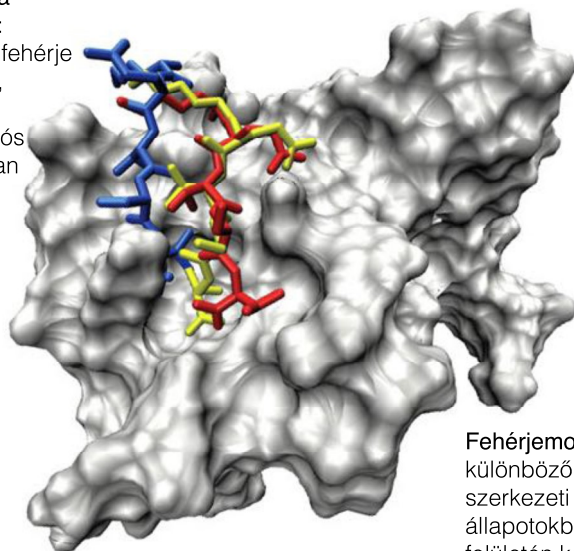
BIOMOLEKULÁRIS SZERKEZET, DINAMIKA. MECHANIKA: RÖNTGENDIFFRAKCIÓ, EGYMOLEKULA BIOFIZIKA

KELLERMAYER MIKLÓS



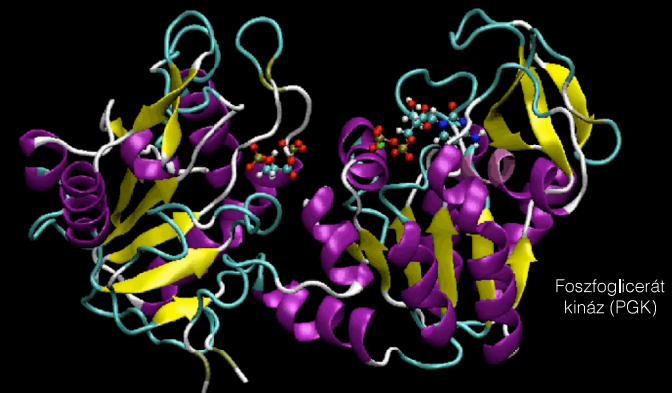
Szerkezet

Kismolekula
(ligandum):
kötődhet a fehérje
felületéhez,
különböző
konformációs
állapotokban



Fehérjemolekula:
különböző
szerkezeti
állapotokban,
felületén kötőhelyek

Dinamika



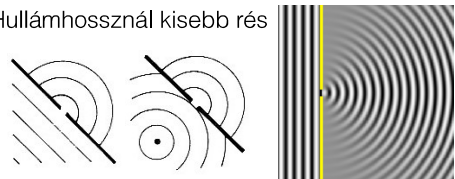
Foszfogliserát
kináz (PGK)

A molekulák állandó, gyors mozgásban vannak. Bonyolult molekulákban (pl. fehérjék) az egymásra épülő egyszerű mozgásmódusok (pl. vibráció, rotáció) rendkívül összetett mozgásokat eredményeznek. Bizonyos globális mozgások a molekula specifikus működésével állnak kapcsolatban.

Röntgen diffrakció, krisztallográfia

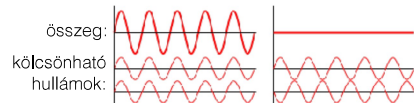
Alapja: hullámelhajlás és interferencia

Hullámhossznál kisebb rés

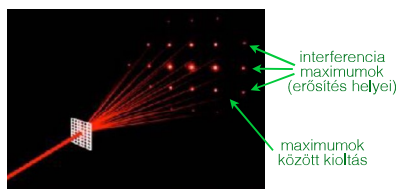


Hullámok fázisban ($\varphi=0$): erősítés

Ha $\varphi=\pi$: kioltás

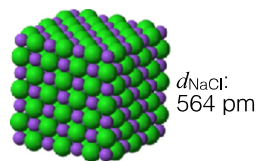
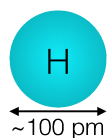


2D optikai rács elhajlási (diffrakciós) interferencia képe

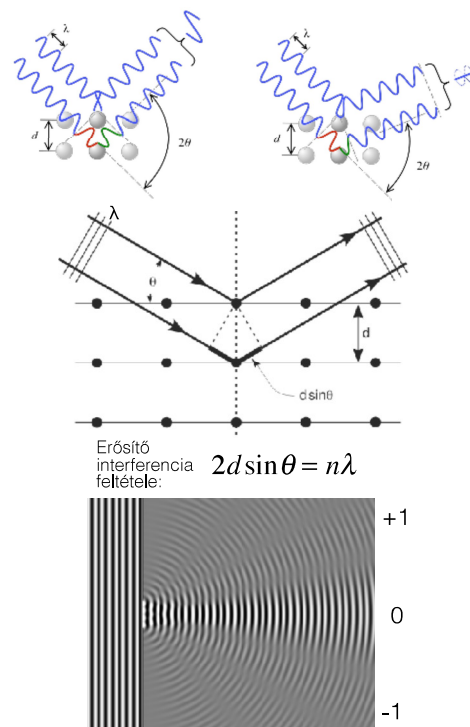


Feltétel: rácsállandó (d) és hullámhossz (λ) összemérhetők: $d \geq \lambda$

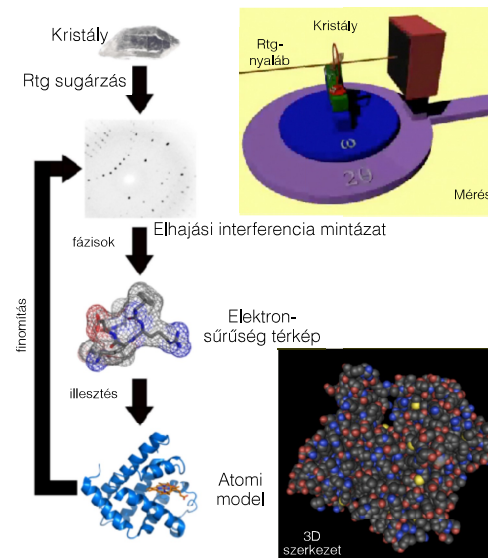
Milyen rács illik a röntgensugárzáshoz?
 $\lambda_{\text{Rtg}}: 10\text{-}200 \text{ pm}$



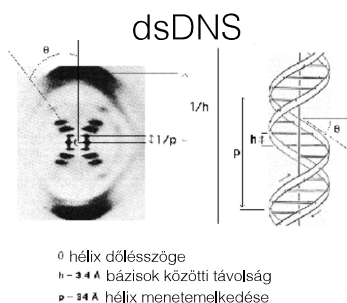
Rtg-diffrakcióval kapott információ: atomok térbeli koordinátái \rightarrow molekula térszerkezete



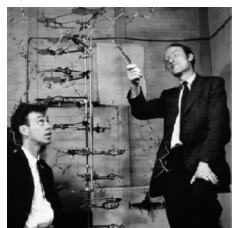
Röntgen-krisztallográfia



Molekulaszerkezet megfejtése röntgen-krisztallográfiával

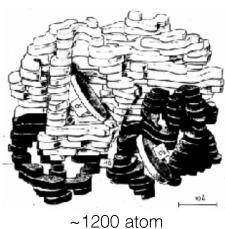


θ hélix dőlésszöge
 $h \sim 3.4 \text{ \AA}$ bázisok közötti távolság
 $p \sim 34 \text{ \AA}$ hélix menetemelkedése



J.D. Watson és F. Crick, 1953

Globuláris fehérje: mioglobin

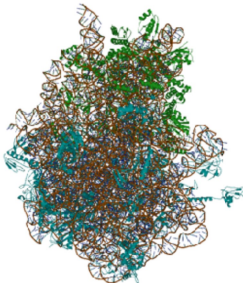


~ 1200 atom



M. F. Perutz, J. C. Kendrew
Nobel díj 1962

Molekulakomplex: riboszóma



30S alegység: ~ 35000 atom,
50S alegység: ~ 64000 atom



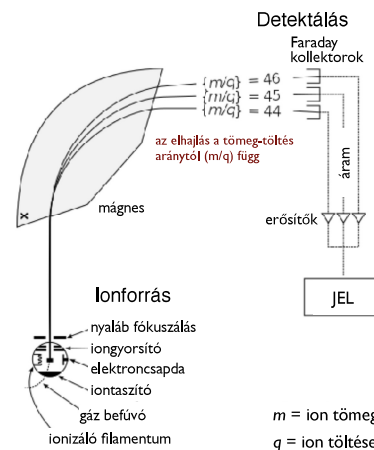
V. Ramakrishnan, T. A. Steitz, A. E. Yonath
Nobel díj 2009

Tömegspektrometria

Tömegspektrometria - mass spectrometry (MS): a minta atomjai és molekulái tömegeinek eloszlását mérő analitikai módszer. A megmért spektrum a minta elemi vagy izotóp ujjlenyomata, amely a kémiai szerkezetre jellemző.

Lépések:

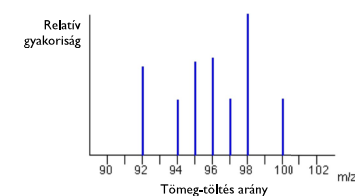
1. Ionizáció
2. Tömeg azonosítás
3. Detektálás (relatív mennyiség meghatározás)



Detektálás



Eredmény: "Vonal" diagram

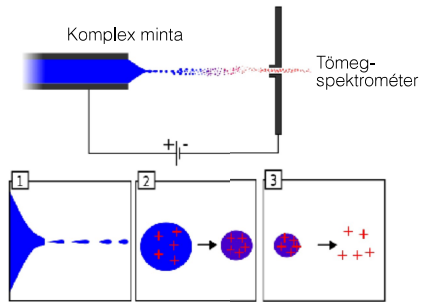


A spektrumot szerkezeti adatbázissal vetjük össze

m = ion tömeg
 q = ion töltése

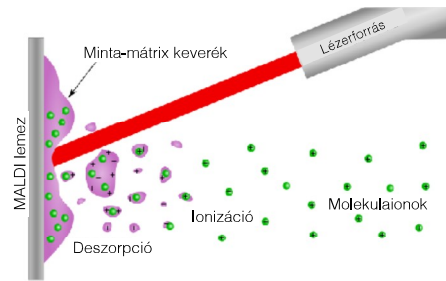
Biológiai mintáknál alkalmazott ionizációs módszerek

Elektrospray ionizáció



(2) oldószer párolgás → kisebb csepp
→ nagyobb felületi töltés → (3)
Coulomb tasztítás → felrobbannak a
cseppek → ionizált gyorsított
molekulák

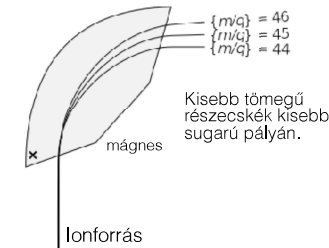
MALDI: “matrix-assisted laser desorption/ionization”



A lézersugárzást a mátrix
atomjai (molekulái) absorbeálják.
Nagy molekulák vizsgálatához ideális.

Tömeganalízis módszerei

Mágneses módszer



A Lorentz erő gyorsítja (a) az m
tömegű töltött (q) részecskéket:

$$q(E + v \times B) = ma$$

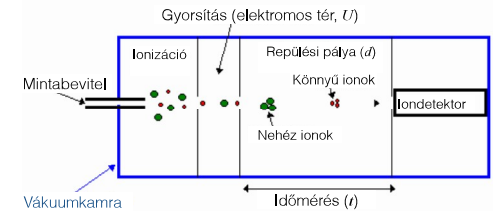
E =elektromos térerősség,
 $v \times B$ =sebesség és mágneses
indukció vektorialis szorzata

amelyből a részecskére jellemző
 m/q meghatározható:

$$\frac{m}{q} = \frac{E + v \times B}{a}$$

m/q helyett általában az m/z -t használnák, ahol $z=q/e$ (dimenzió nélküli szám).

“Time-of-flight” (repülési idő)



Töltött részecske helyzeti energiája
(qU) mozgási energiává alakul:

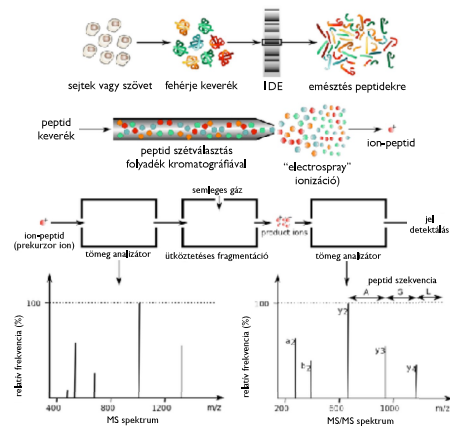
$$qU = \frac{1}{2}mv^2 = \frac{1}{2}m\left(\frac{d}{dt}\right)^2$$

amelyből t kifejezhető és segítségével a
részecskére jellemző m/q meghatározható:

$$t = \frac{d}{\sqrt{2U}} \sqrt{\frac{m}{q}} = k \sqrt{\frac{m}{q}}$$

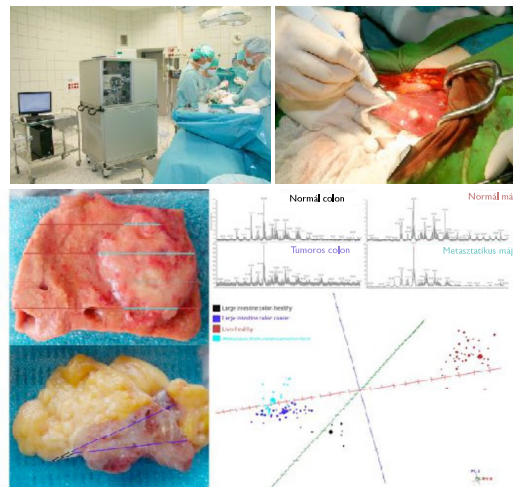
Tömegspektrometriás alkalmazások

1. Fehérje analitika (proteomika)



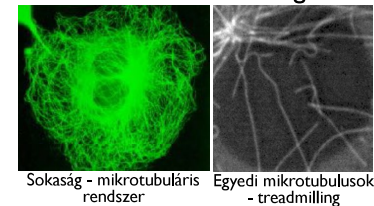
2. Diagnosztikai szűrővizsgálatok:
Anyagcserebetegségek (1 csepp vérből)
pl. phenylketonuria (PKU)

3. Valós idejű szövetanalízis (“onkológus”)

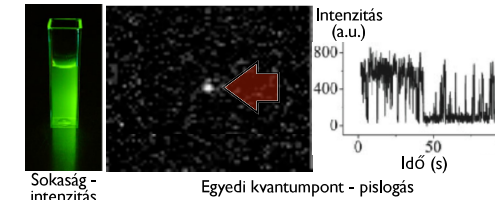


Egymolekula biofizika

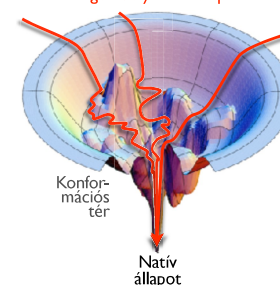
1. Egyének (tér- időbeli trajektóriák) azonosíthatók sokaságban



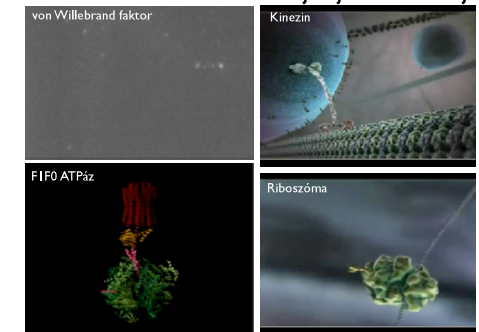
2. Sztochasztikus eseményeket fedeztünk fel



3. Párhuzamos útvonalon haladó folyamatokat ismerhetünk meg

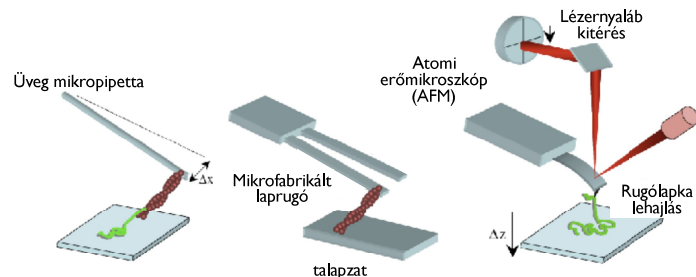


4. Biomolekulák mechanikáját jellemezhetjük

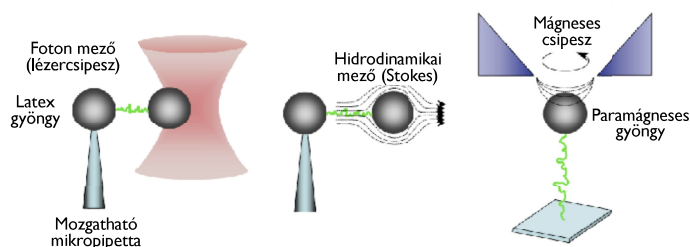


Egyedi molekulák manipulálása

Rugólapka módszerek

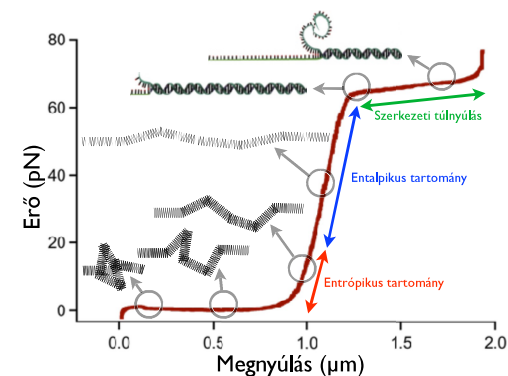
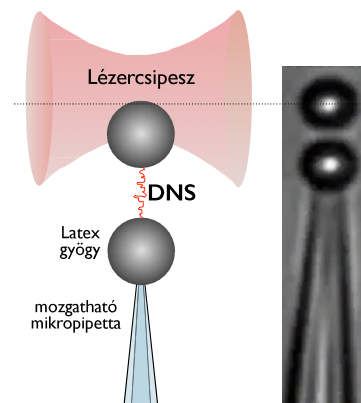


Mező alapú módszerek

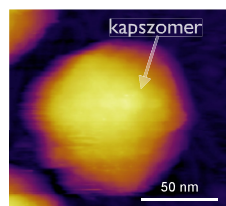
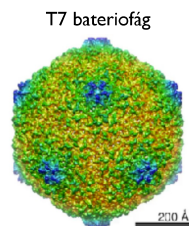


Mérhető paraméterek I. Erő

Mekkora erő fejlődik egy dsDNS molekula nyújtásakor?



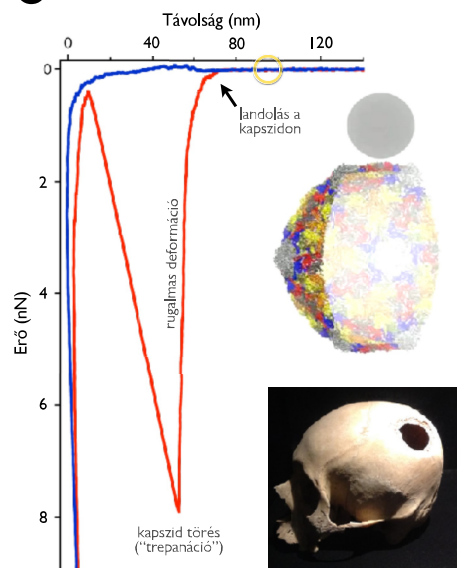
Mérhető paraméterek I. Erő



Csillám felületen glutaraldehiddel immobilizált T7 fág partikulumok



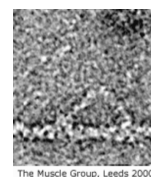
Vírus kapszid nanoindentációja



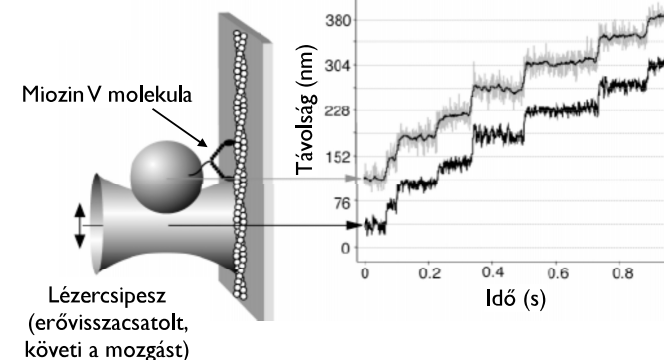
Trepandó: Hiroko Kaponics, Museo Ráfol, Lúcio Herrera, Lima

Mérhető paraméterek II. Távolság

Mekkorát lép egy motorfehérje?

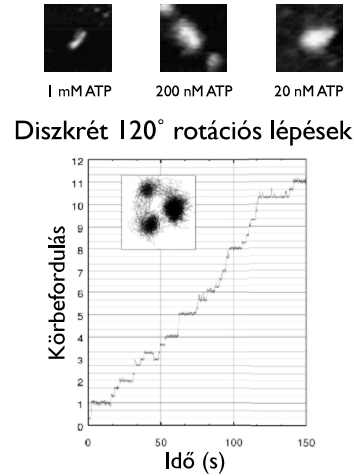
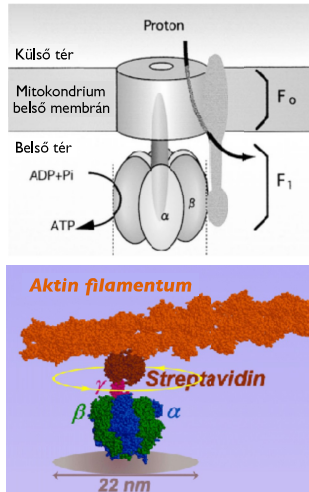


Miozin V krio-elektron-mikroszkópiás felvételsorozat



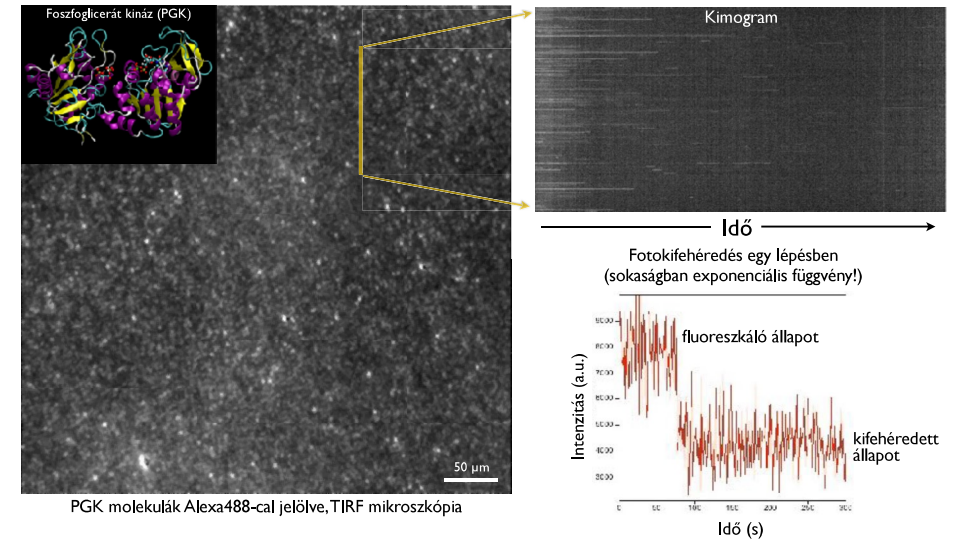
Mérhető paraméterek II. Elfordulási szög

Hogyan működik az ATP szintáz?

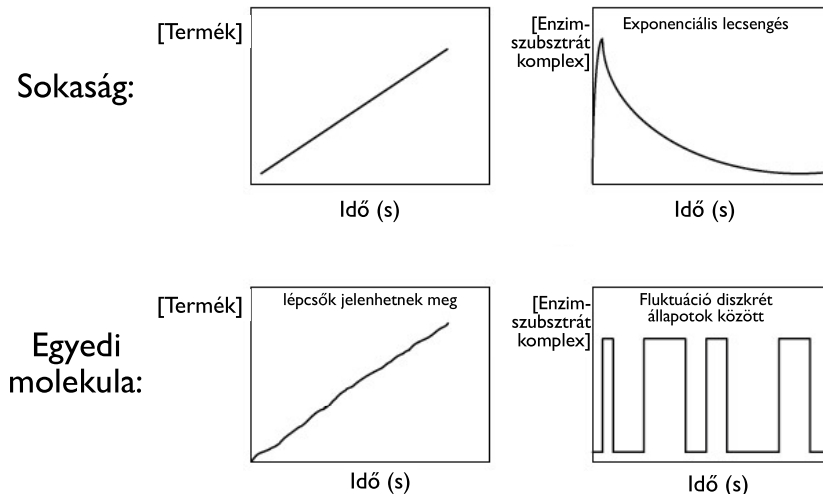


Mérhető paraméterek I. Fluoreszcencia

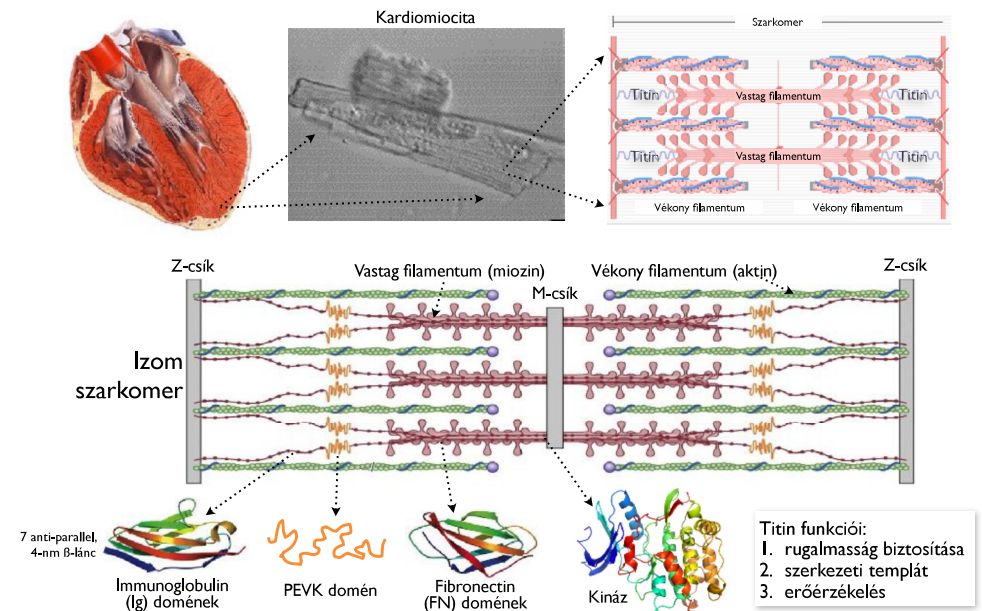
Milyen állapotok között fluktuál egy molekula?



Sokaság versus egymolekula viselkedés



Szerkezet és mechanika összevetése: A titin óriás izomfehérje működése



Titin mechanika: nemlineáris rugalmasság + domén kitekeredés

