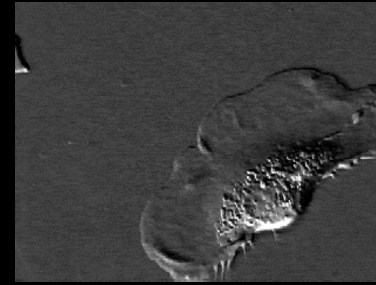


EGYEDI MOLEKULA VIZSGÁLATOK

KELLERMAYER MIKLÓS

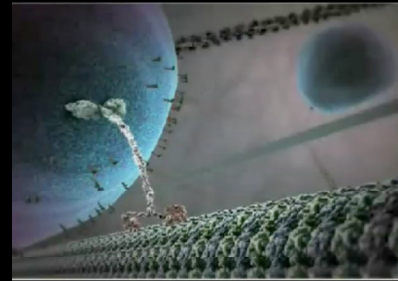
Élő sejtben: nanoskálájú gépezetek sokasága



Tovakúszó keratinocita



Mikrotubulus dinamikus instabilitás



Vezikulum transport kinezínnel

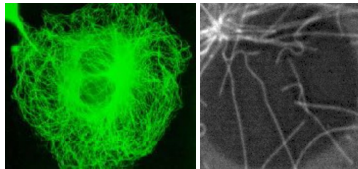


Fehéjeszintézis riboszómán

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

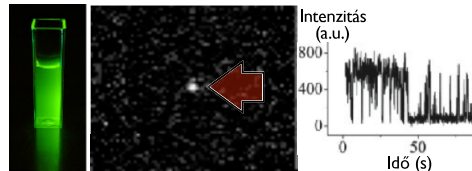
Molekulák - miért egyenként?

1. Egyéneket (tér- és időbeli trajektóriák) azonosíthatunk sokaságban



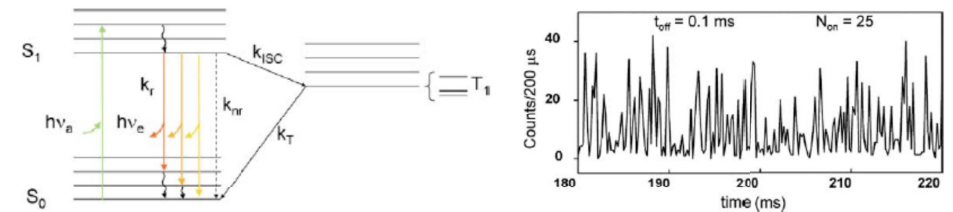
Sokaság - mikrotubuláris rendszer
Egyedi mikrotubulusok - treadmilling

2. Sztochasztikus folyamatokat ismerhetünk meg



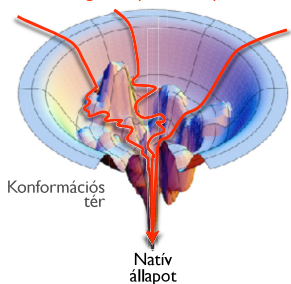
Sokaság - intenzitás
Egyedi kvantumpont - pislogás ("blinking")

Vizsgálható paraméterek: Fluoreszcencia

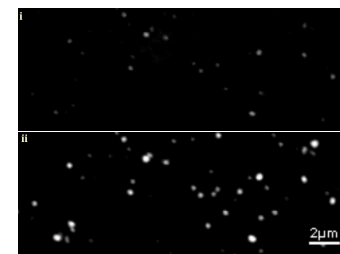
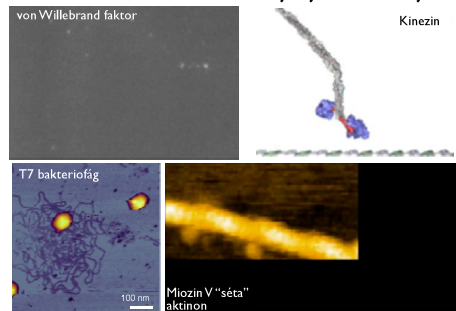


3. Párhuzamos útvonalakon zajló folyamatokat azonosíthatunk

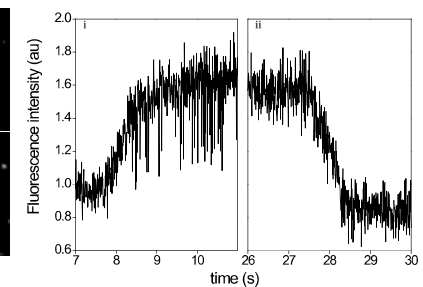
Kigombolyodott állapot



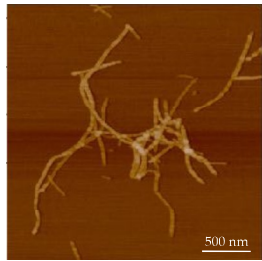
4. Biomolekulák mechanikáját jellemezhetjük



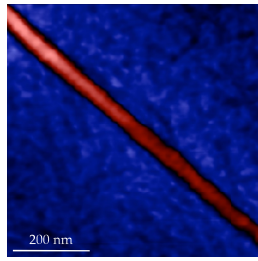
TRITC-jelölt titinmolekulák



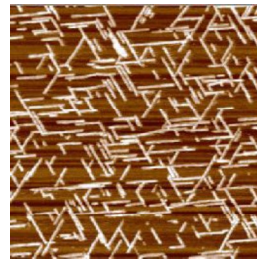
Vizsgálható paraméterek: topográfia



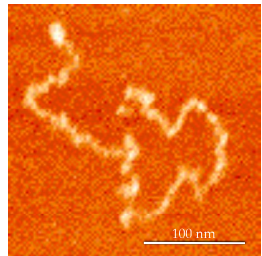
Amyloid β1-42



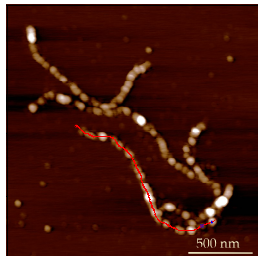
Fibrin protofibrillum



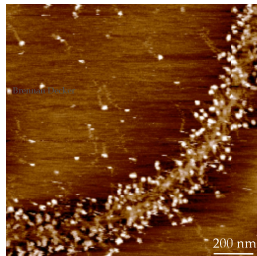
Amyloid β25-35



Titinmolekula

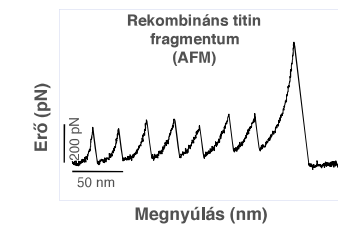
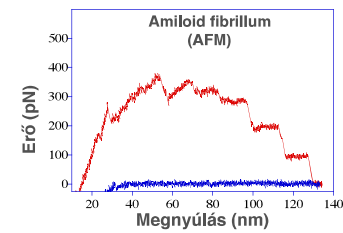
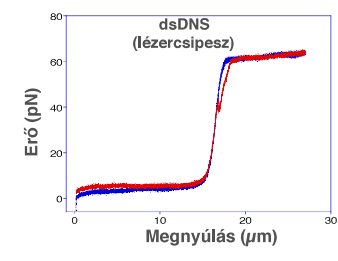
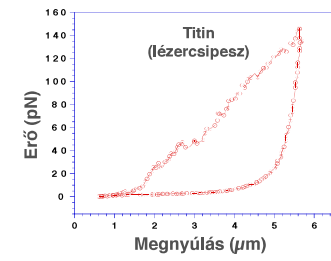


Dezmin filamentum



Miozin vastag filamentum

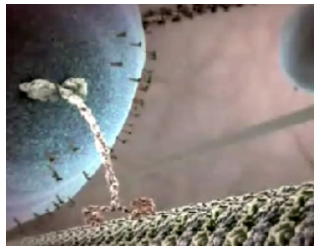
Vizsgálható paraméterek: erő



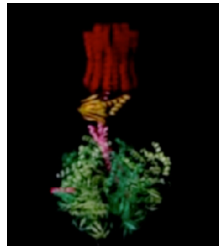
RUGALMASSÁG + SZERKEZETI VÁLTOZÁS ("ÁTMENET")

1. Erő: kifejlődik

Kinezin



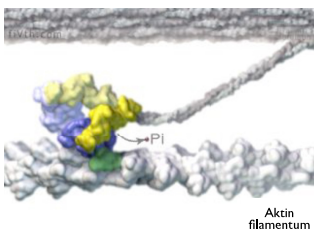
F1F0 ATPáz



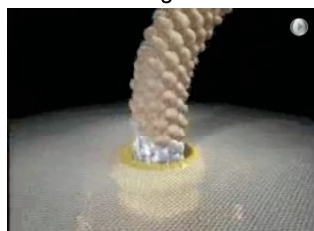
Riboszóma



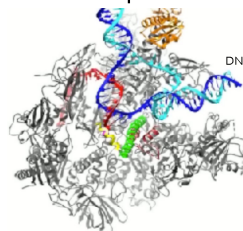
Miozin II



Bakteriális flagellum motor

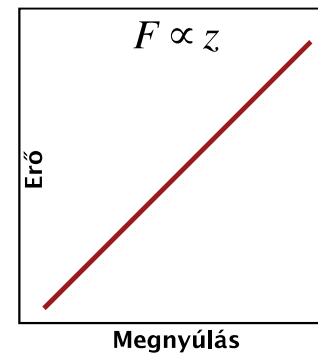
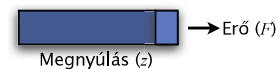


RNS polimeráz

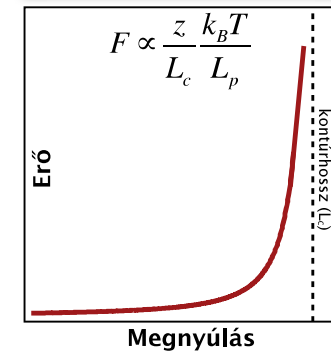
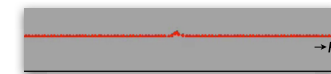


2. Erő: deformálja a szerkezetet

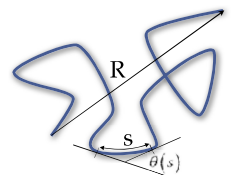
Merev test:
az erő kötések torzít -
Hooke-törvény



Polimerlánc:
az erő konfigurációs entrópiát csökkent



"Wormlike chain"

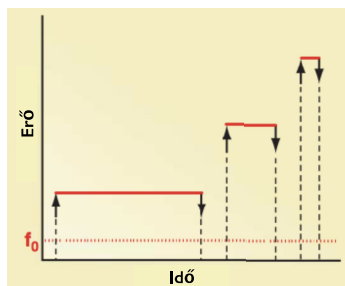
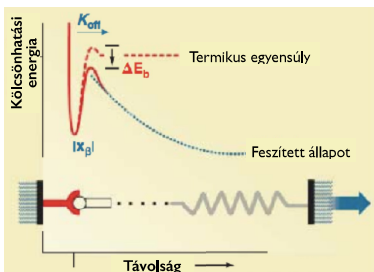


$$\langle \cos \theta(s) \rangle = e^{-\frac{s}{L_p}}$$

$$L_p = \frac{EI}{k_B T}$$

L_p = perzisztenciahossz
 L_c = kontúrhossz
 $k_B T$ = termikus energia
 EI = hajlítómerevség
 E = Young modulus
 I = keresztmetszet második momentuma

3. Erő: befolyásolja a reakciósebességet



Evan A. Evans and David A. Calderwood Science 316, 1148 (2007)

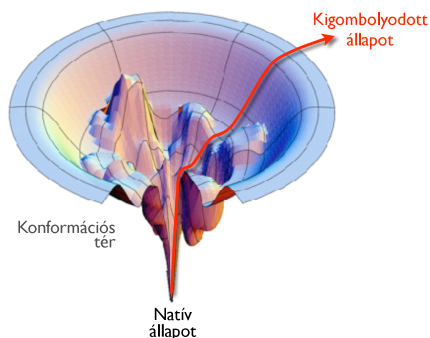
Termikus aktiváció: $\tau(0) = \omega e^{\frac{E_a}{k_B T}}$

Mechanikai terhelés: $\tau(F) = \omega e^{\frac{F_0 - F \Delta x}{k_B T}} = \tau(0) e^{\frac{F \Delta x}{k_B T}}$

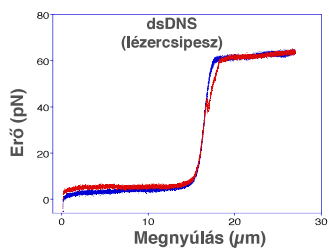
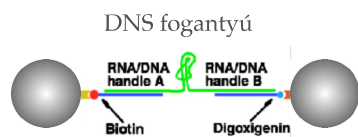
ω = karakterisztikus idő

E_a = aktivációs energia

Δx = távolság a kötött és tranzíciós állapotok között

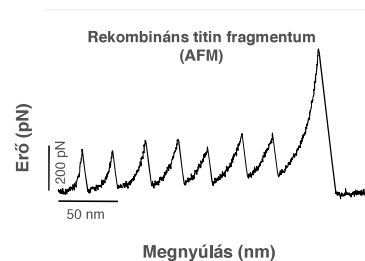


Molekuláris szingularitás: nanomechanikai ujjlenyomat



Kooperatív átmenet 65 pN-nál
DNS-RNS hibrid

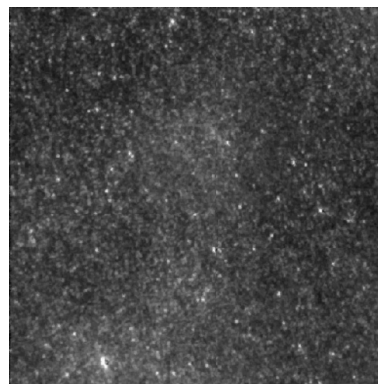
Rekombináns poliprotein



Fűrészfog alakú átmenetek
Egyenlő távolság a fogak között

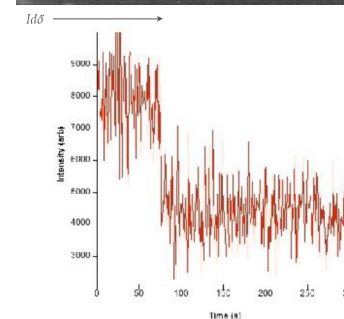
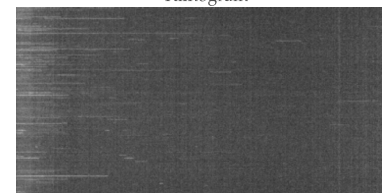
Molekuláris szingularitás: egylépcsős photobleaching

TIRFM



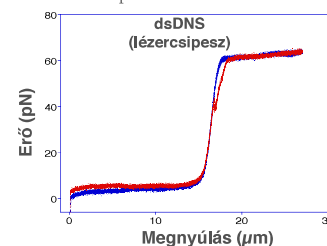
Alexa-488-PGK

Kimogram



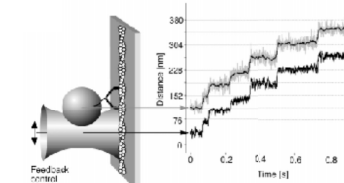
Folyamatok az egyedi molekula skálán

Kooperatív erőátmenet

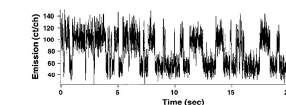
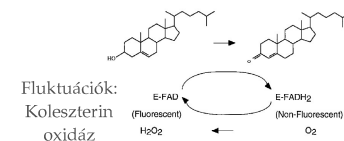
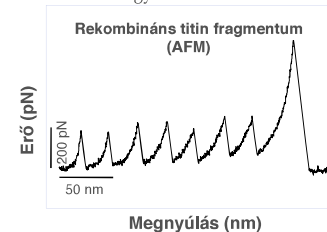


Diszkrét lépések:

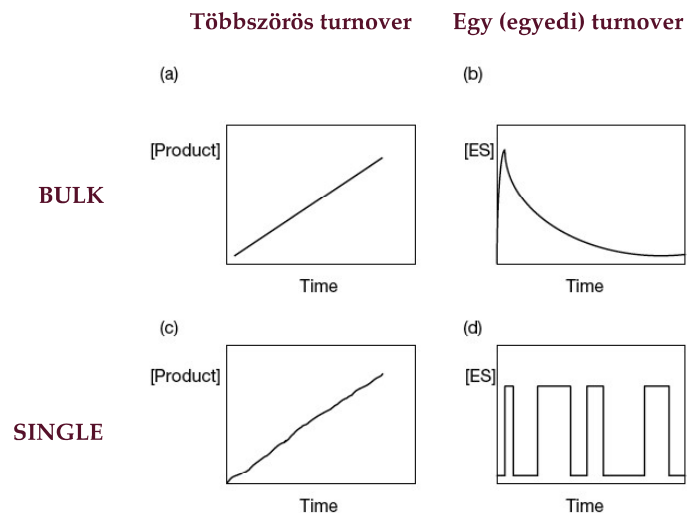
Miozin V - processzív motor



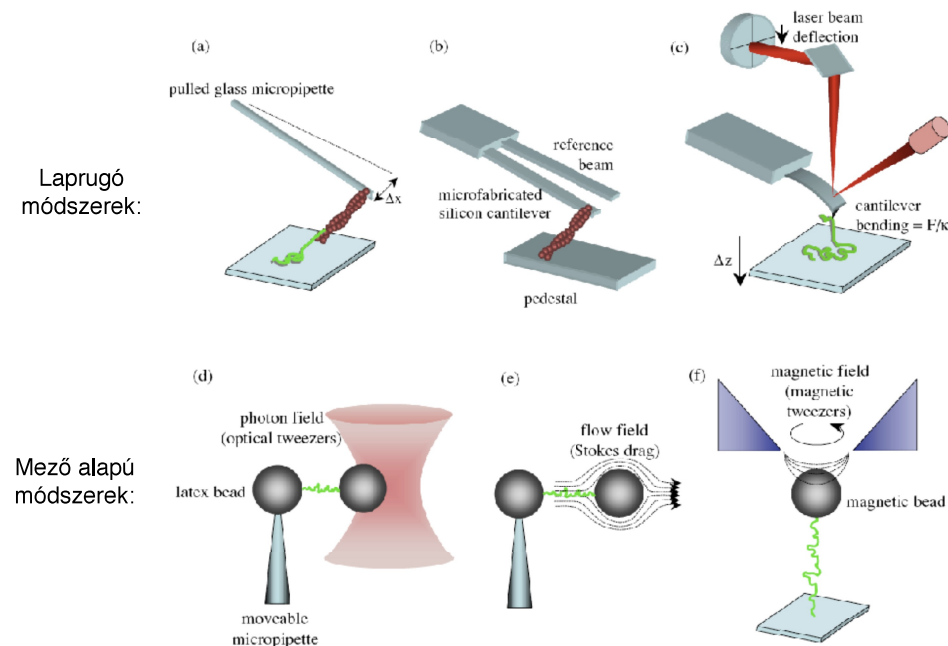
Minden-vagy-semmi erőátmenet



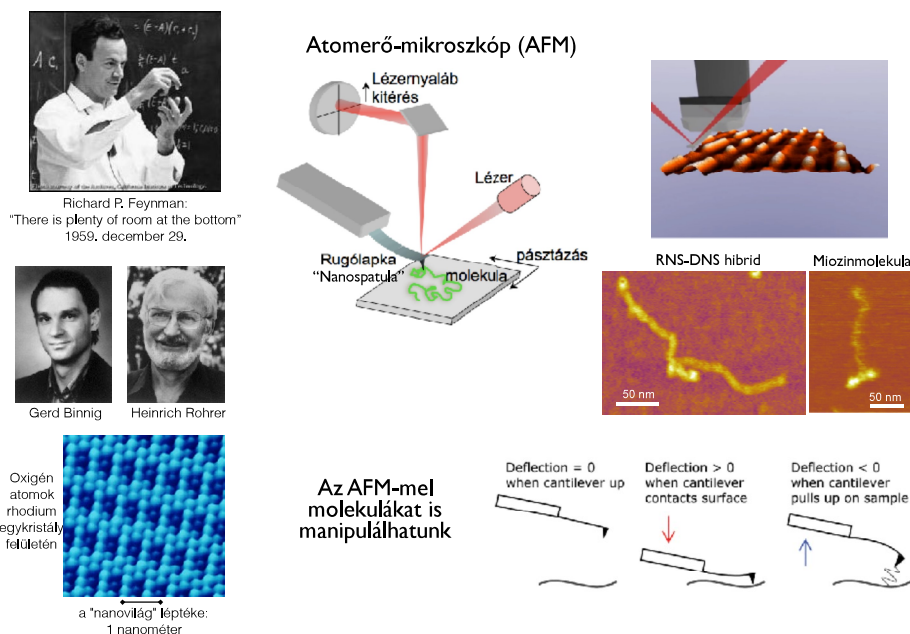
Bulk versus single



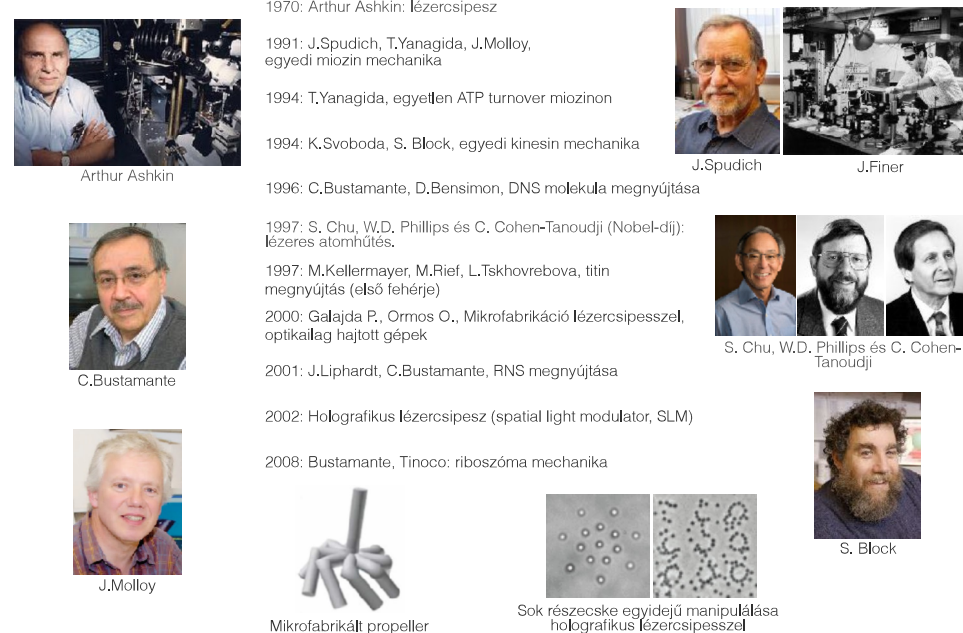
Nanomanipulációs módszerek



Pásztázó tűszondás mikroszkópia



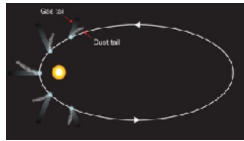
Lézersipesz - fontosabb történeti állomások



Kölcsönhatásai során a foton impulzusa megváltozik



Johannes Kepler
(1571-1630)



Üstökös farka a nappal ellentétes irányba áll: a napfény mechanikai hatása

Einstein:
tömeg-energia
ekvivalencia
 $E = mc^2$

Planck:
sugárzási
törvény
 $E = hf$

Maxwell:
fény terjedési
sebessége
 $c = \lambda f$



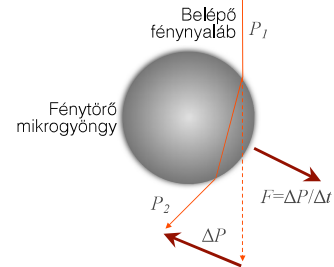
Louis-Victor-Pierre-Raymond, 7th duc de Broglie (1892-1987)

$$mc^2 = h \cdot \frac{c}{\lambda}$$

A foton impulzusa:

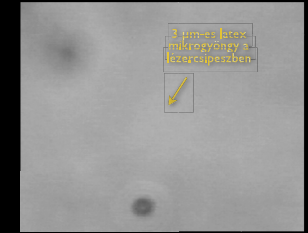
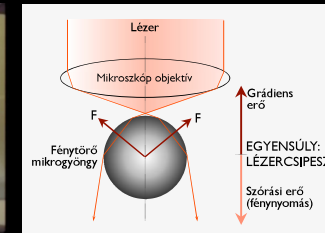
$$P = \frac{h}{\lambda}$$

A refrakció fényimpulzus-változással (ΔP) jár:



Az optikai csipeszben a fotonok és a fénytörő részecske között impulzuscsere lép fel

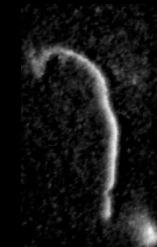
Nanomanipulálás fénnel



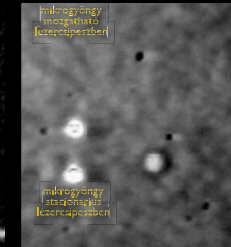
E. coli baktériumsejt



Aktin filamentum



Fáziskontraszt kép

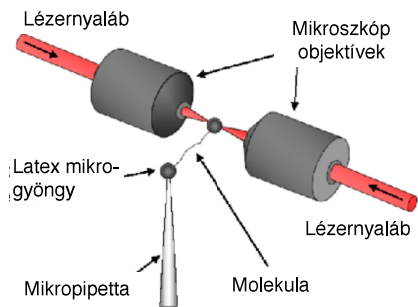


DNS

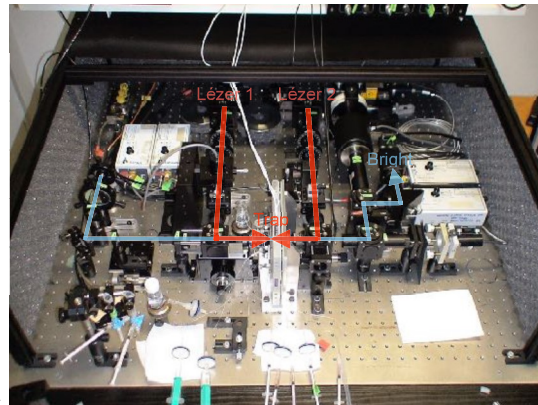
Fluoreszcencia kép

Arai et al. Nature 399, 446, 1999

A lézercsipeszsel erőt is lehet mérni



Két lézersugaras optikai csipesz berendezés



Erőkalibráció

- Fényimpulzus-változás közvetlen megmérése
- Ismert erővel való kalibrálás (Stokes erő)
- Ekvipartíció tétele

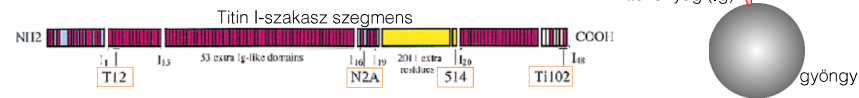
Molekula - fogantyú geometria

mikrogöngy $\sim 1 \mu\text{m}$

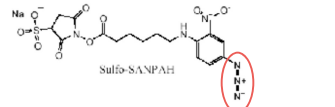
molekula $\sim 10 \text{ nm}$

Molekula fogantyúhoz rögzítése

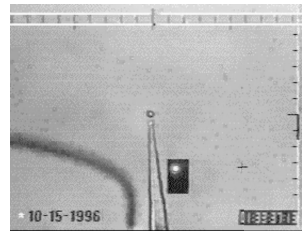
Szekvensspecifikus ellenanyagok



Fotoreaktív keresztkötő - molekulahegesztés

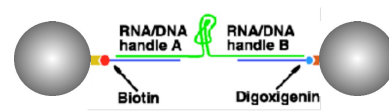


- Nem specifikus
- Fotoreaktív N₃- (azido) csoport (amino-csoportokkal reagál)
- UV megvilágítás



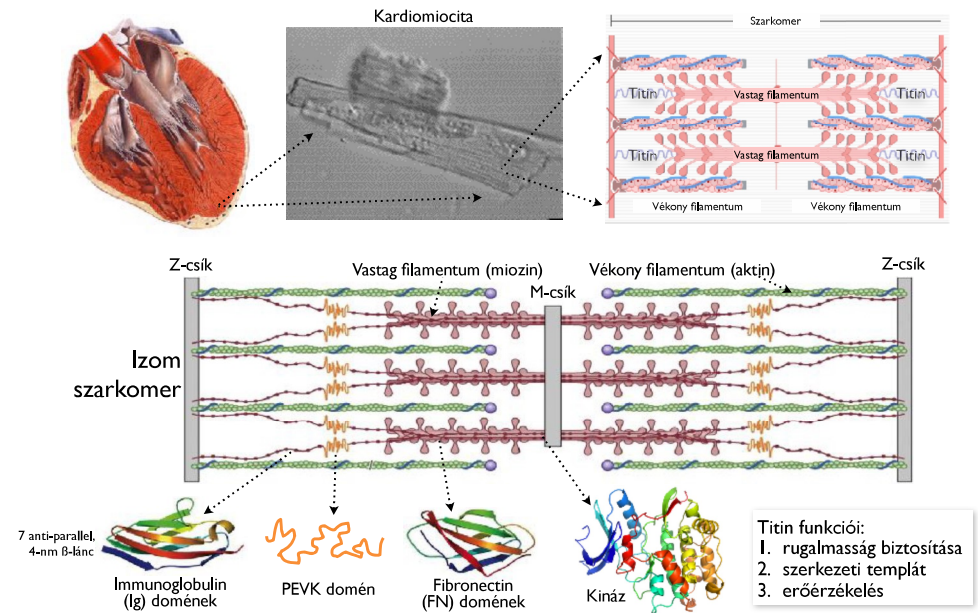
DNS fogantyú

- Molekuláris dimenzió
- Klónozási technikákkal specifikussá tehető
- Mechanikai ujjlenyomatot ad

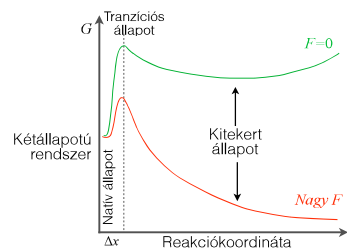
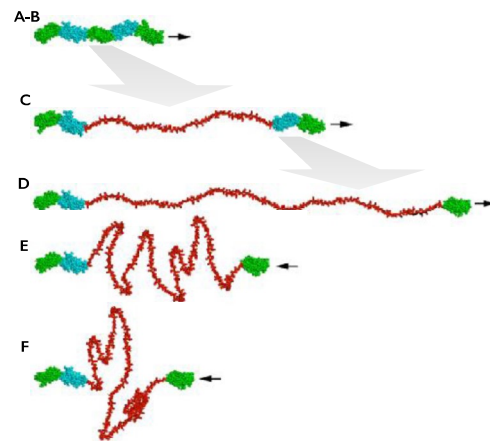
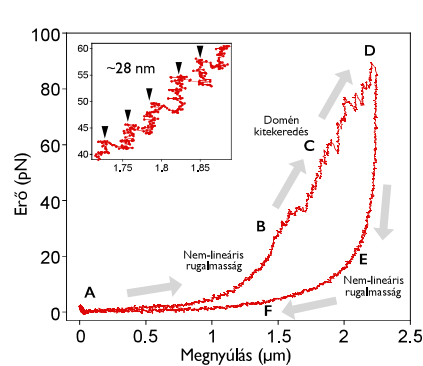


Lézersípész demonstráció!

A titin óriás izomfehérje nanomanipulálása



Erőhatásra a titin kitekeredik



Erővezérelt domén kitekeredési sebesség:

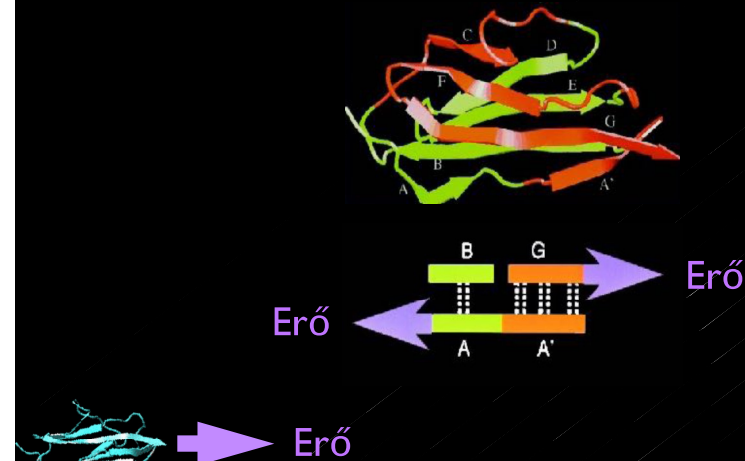
$$k_F = k_0 e^{F\Delta x / k_B T}$$

k_0 : spontán kitekeredési sebesség

Domén kitekeredés:

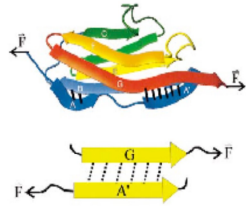
1. minden vagy semmi elv szerint
2. nyilvánvaló intermedier nélkül
3. mechanikai stabilitás által diktált hierarchia szerint

A titin doméneket párhuzamosan csatolt H-hidak stabilizálják

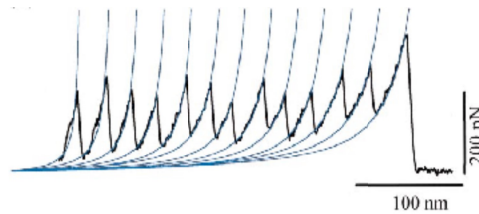


A mechanikai stabilitás biológiai logikája

Szerkezetet összetartó H-hidak párhuzamos csatolása



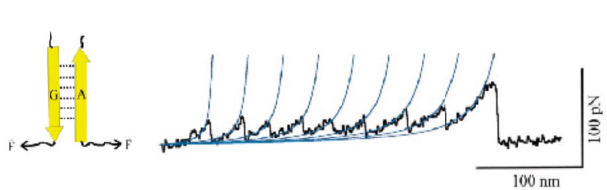
Nagy kiterjedési erő



Szerkezetet összetartó H-hidak soros csatolása

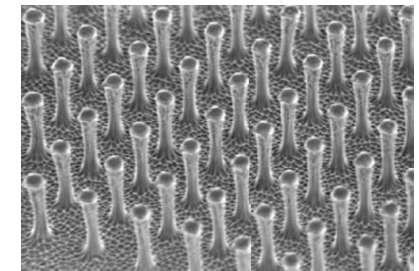


Alacsony kiterjedési erő



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