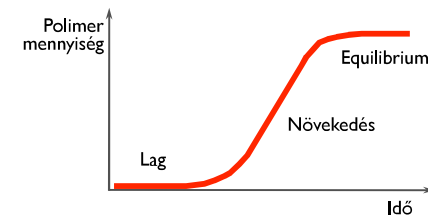


# POLIMERIZÁCIÓ, ÖNSZERVEZŐDÉS, MECHANOENZIMEK, FEHÉRJEGOMBOLYODÁS, IREVERZÍBILIS FOLYAMATOK

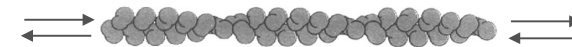
KELLERMAYER MIKLÓS

## Polimerizáció

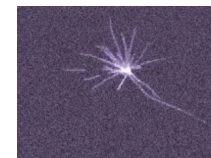


## Polimerizációs egyensúlyok

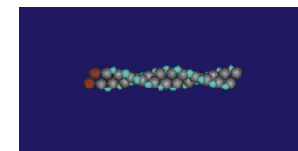
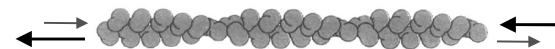
1. valódi equilibrium



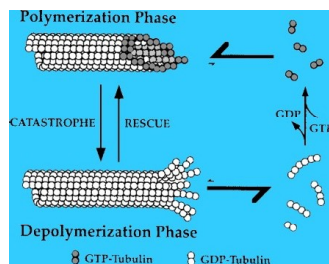
2. dinamikus instabilitás: folyamatos, lassú növekedést követő katasztrofikus depolimerizáció



3. Treadmilling: taposómalom

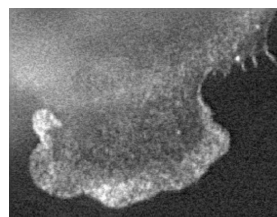


## In vivo dinamikus instabilitás Mikrotubulusok



**CHO Cytoplasm  
with  
Centrosome**

## In vivo treadmilling



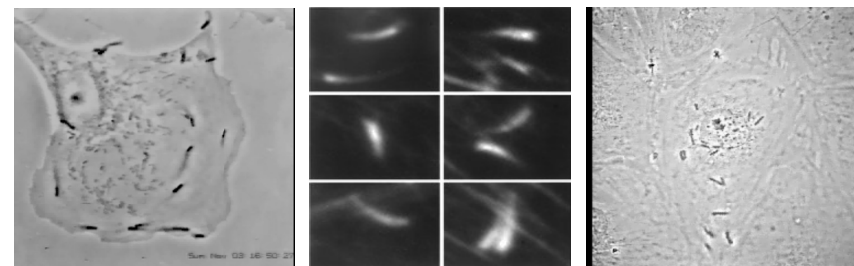
Aktin

GFP-aktin Speckle microscope



Microtubulusok

## Motilitás aktin polimerizációval Intracelluláris patogének mozgása



*Listeria monocytogenes*

F-aktin jelölés phalloidinnel

*Shigella flexneri*

# Motilitás aktin polimerizációval *In vitro* körülmények



*Listeria Xenopus* extraktumban



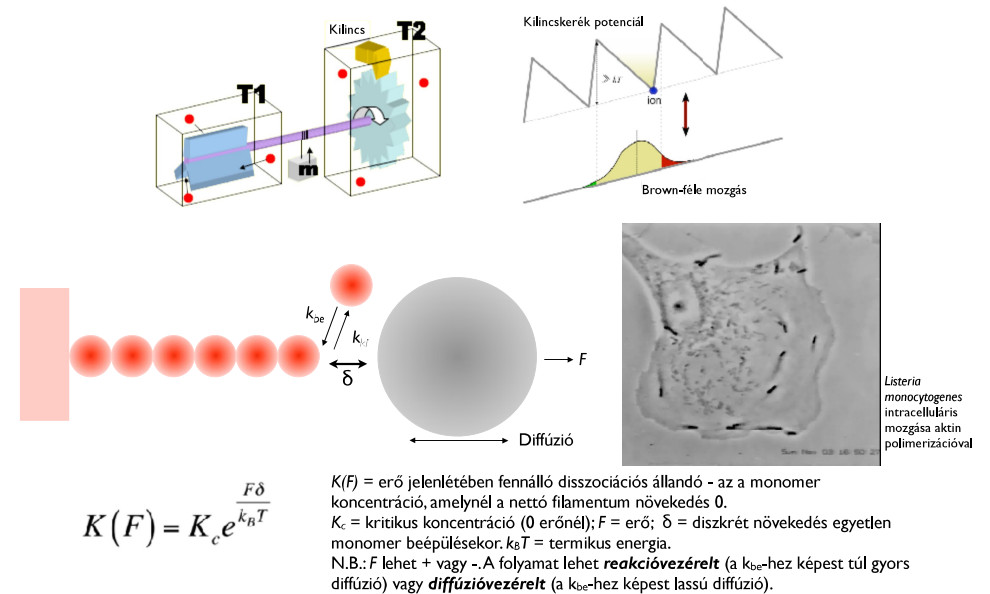
ActA-val aszimmetrikusan bevont mikrotuböngy *Xenopus* extraktumban



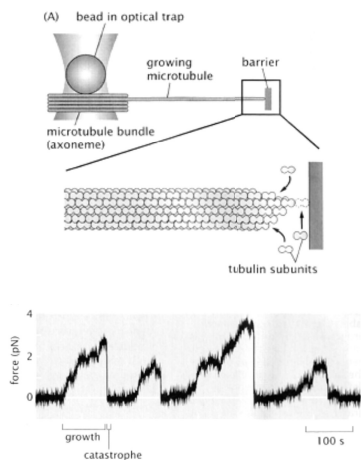
ActA-val szimmetrikusan bevont mikrotuböngy *Xenopus* extraktumban

ActA: A protein expressed by the bacterium *Listeria monocytogenes* that is responsible for the "rocketing" motility of the bacterium throughout the eukaryotic host cell. In addition to other host proteins, ActA binds actin directly.

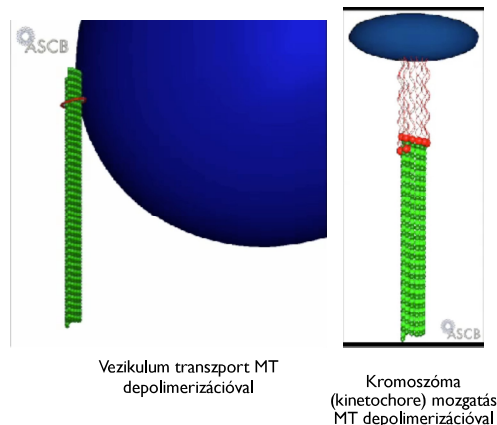
# A diffúzió speciális esete: Brown-féle kilincskerék



## Erőkifejtés polimerizációval

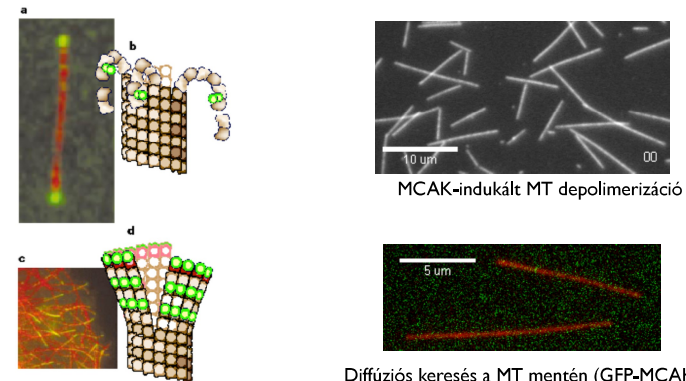


## Erőkifejtés depolymerizációval



# MCAK: MT-depolimerizáló kinezin

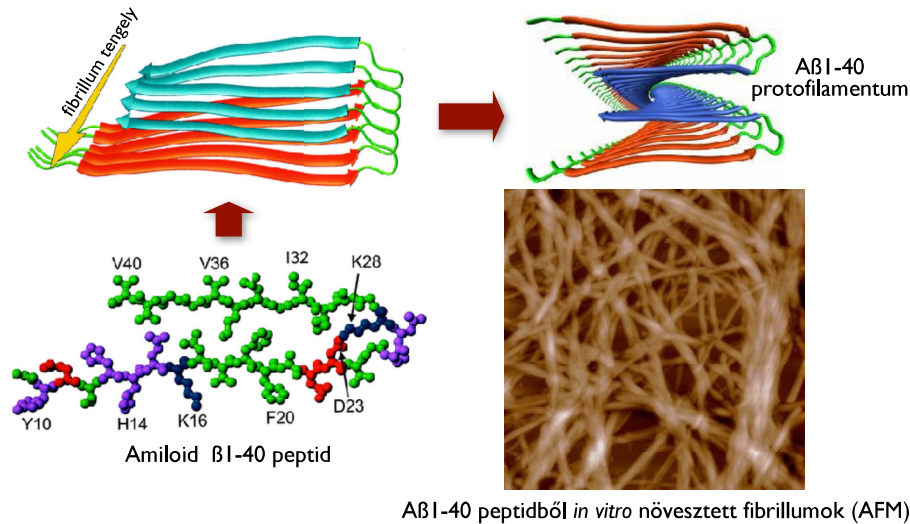
**MCAK:**  
 "Kinezin-13"  
 A MT + végéhez kötődik  
 Diffúziós mechanizmussal keresi meg a + véget  
 ATP-t hidrolizál  
 MT depolymerizációt szabályoz ("katasztrófa-faktor")



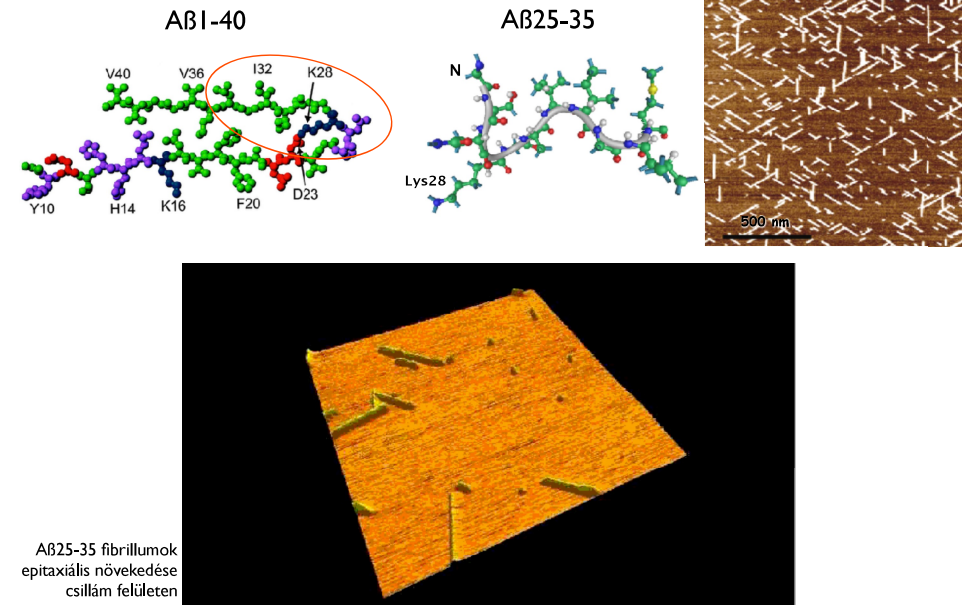
Diffúziós keresés a MT mentén (GFP-MCAK)

# Önszerveződés, vezérelt polimerizáció

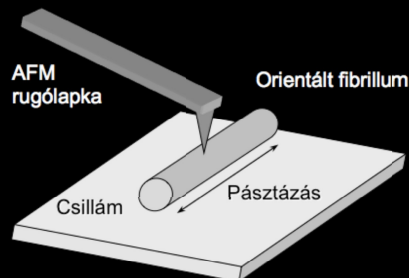
Amiloid  $\beta$ -fibrillumok: az Alzheimer plakkok fontos komponensei



## Amiloid fibrillum epitaxiális növekedése



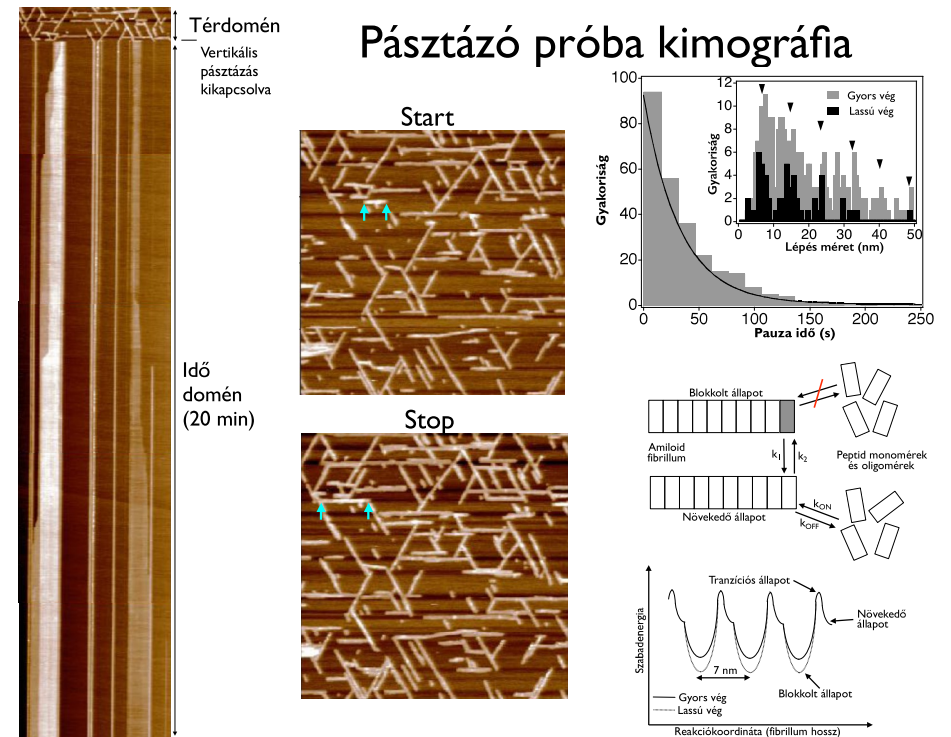
A katalizált fibrillum növekedés nano-skálájú mechanizmusa: pásztázó próba kimográfia



Térbeli felbontás: 1 nm

Időbeli felbontás: 300 ms

## Pásztázó próba kimográfia





# Motorfehérjék

1. Specifikus citoskeletális filamentumhoz kapcsolódnak (DE...)
2. Elmozdulást és erőt generálnak
3. Kémiai energiát használnak fel
4. Kémiai energiát közvetlenül alakítják mechanikai munkává (nincs közbűsítő hő- vagy elektromos energia)

## Motorfehérjék alaptípusai

### 1. Aktin alapú

**Miozinok:** Konvencionális (miozin II) és nem-konvencionális Miozin szupercsalád (I-XXIV osztályok). Plusz vég irányába mozognak.

### 2. Mikrotubulus alapú

**a. Dineinek:** Ciliáris (flagelláris) és citoplazmáris dineinek.

A mikrotubulus mentén a mínusz vég irányába mozognak.

**b. Kinezinek:** Kinezin szupercsalád: konvencionális és nem-konvencionális. A mikrotubulus mentén a plusz vég irányába mozognak.

**c. Dinaminok:** MT-függő GTPáz aktivitás

Biológiai szerep: vakuoláris fehérjeválogatás (pinchase enzimek)?

### 3. DNS alapú mechanoenzimek

DNS és RNS polimerázok, vírus kapszid csomagoló motor, kondenzinek  
A DNS fonal mentén haladnak és fejtenek ki erőt

### 4. Rotációs motorok

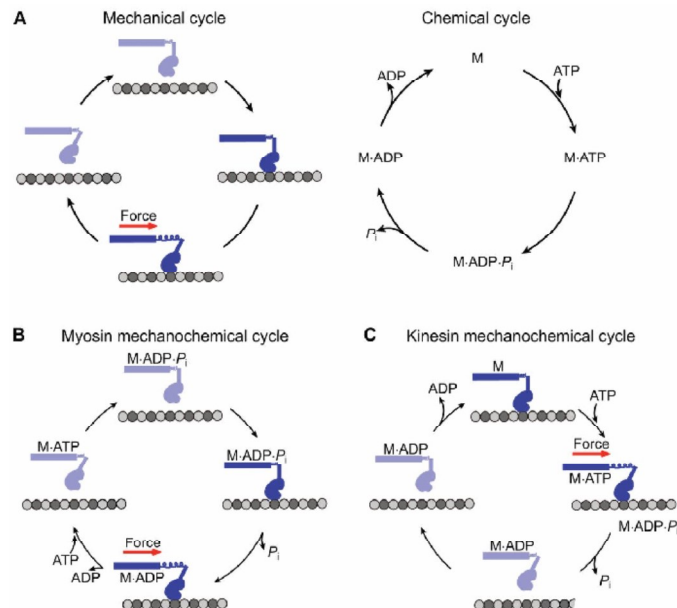
F1F0-ATP szintetáz

Bakteriális flagelláris motor

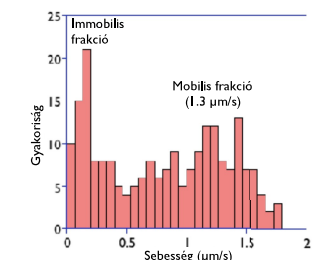
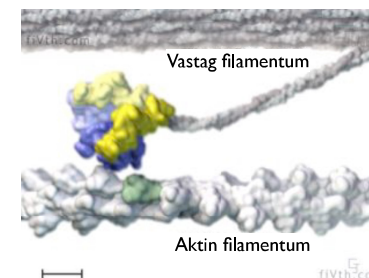
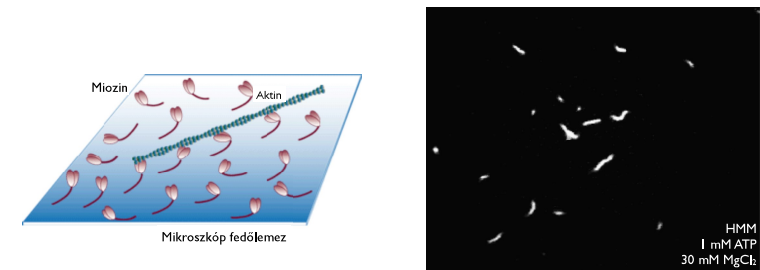
### 5. Mechanoenzim komplexek

Riboszóma

## Ciklusos működés - “duty cycle” (munkaciklus)



## In vitro aktomiozin motilitás





The diagram illustrates the hierarchical structure of muscle tissue in four stages, connected by yellow arrows indicating the flow of information from the whole muscle to the molecular level:

- Izom** (Whole muscle): The top-most image showing the entire muscle with its characteristic striated appearance.
- Izomrost** (Myofibril): A zoomed-in view of a single myofibril, showing the repeating units of the muscle fiber.
- Szarkomer** (Sarcomere): A detailed view of a single sarcomere, the basic contractile unit of muscle, showing the arrangement of actin and myosin filaments.
- Aktin filamentum** (Actin filament): A molecular view of an actin filament, showing the globular actin subunits (green and blue) and the myosin head (yellow) attached to it.
- Miozin** (Myosin): A molecular view of a myosin molecule, showing the long tail (grey) and the head (yellow and blue).
- Vastag filamentum** (Intermediate filament): A molecular view of an intermediate filament, showing the thick, rope-like structure.



**Myosin structure and motility**

Diagram illustrating the structure and function of a myosin molecule. The structure is divided into four regions: Catalytic domain (N), LC binding, Tail region, and Cargo binding (C). The catalytic domain contains ATP binding sites. The diagram shows the myosin head binding to actin filaments, hydrolyzing ATP to ADP and Pi, and moving along the actin filament in the direction of monomer plus (+) to minus (-) end.

**Cargo interactions**

Diagram illustrating the interactions of myosin with various cargo molecules. Myosin can interact with receptors (e.g., RTK, Adaptor), lipids (e.g., Lipid), and protein complexes (e.g., Proteasome, Ribonucleoprotein complex).

**Actin-based projections**

Diagram illustrating the formation of actin-based projections. The diagram shows the formation of filopodia (actin bundles) and microvilli (actin bundles with stereocilia). The diagram also shows the formation of actin-based projections in the presence of + ends and - ends.

**Membrane compartments**

Diagram illustrating the various membrane compartments of a cell. The compartments include the Plasma membrane, Phagosome, Intraosome, Secretory vesicle, Endosome, Vesicle, Golgi complex, Mitochondrion, Nucleus, and Lysosome. The diagram also shows the formation of clathrin-coated vesicles.

**Muscle contraction**

Diagram illustrating the process of muscle contraction. The diagram shows the interaction of actin filaments (thin filaments) and myosin filaments (thick filaments). The myosin head binds to the actin filament, forming a cross-bridge, and pulls the actin filament towards the center of the sarcomere, resulting in contraction.

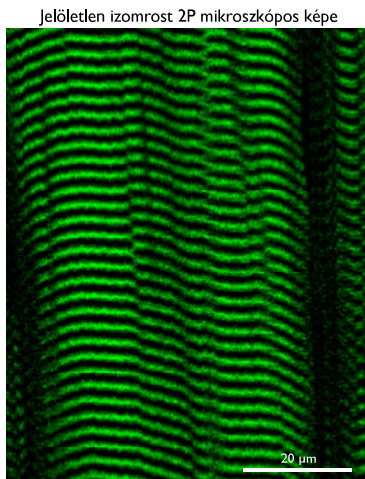
**Cell division**

Diagram illustrating the process of cell division. The diagram shows the formation of the mitotic spindle (microtubules) and the cleavage furrow (actin and myosin). The diagram also shows the formation of the cell plate (cellulose) and the formation of the new cell wall.

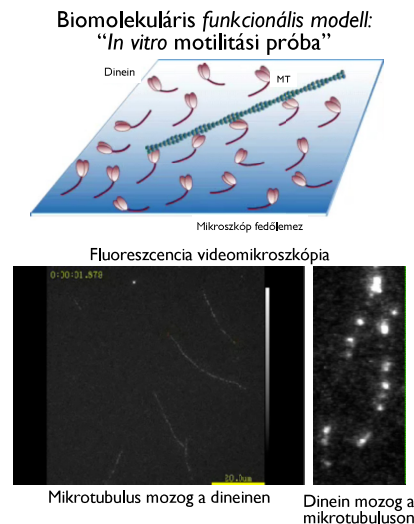
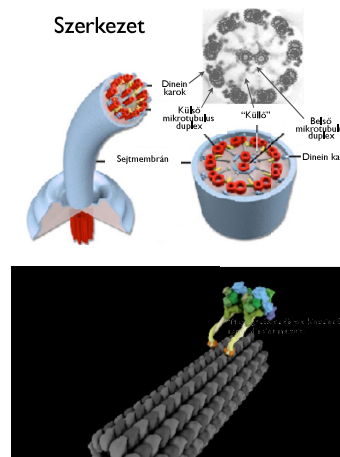
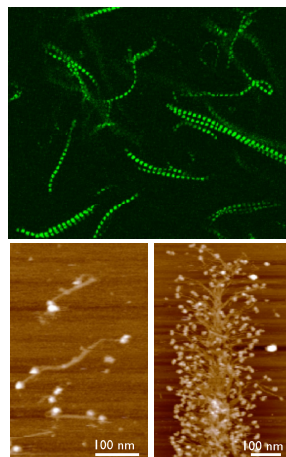
# A miozin II molekulák vastag filamentumokká állnak össze

# Dineinek

Típusok: axonemális és citoplazmáris. Sok alegységes fehérjék (Mr~500 kDa). A minusz vég irányába mozognak. Koordinált működésük meghajlítja a ciliumot.



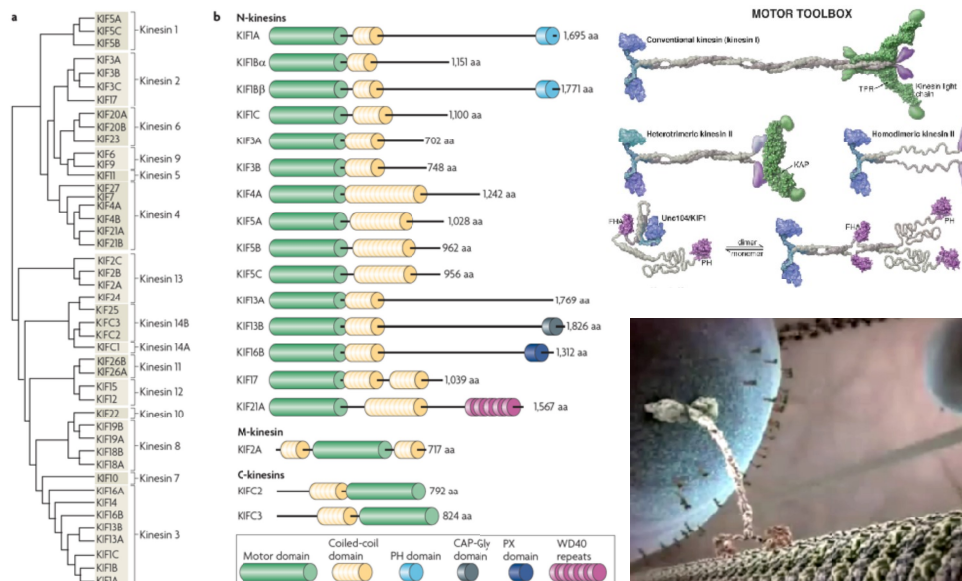
Jelforrás: miozin filamentum helikális szerkezete  
Gerjesztés: 1000 nm  
Második harmonikus generálás (SHG): 500 nm



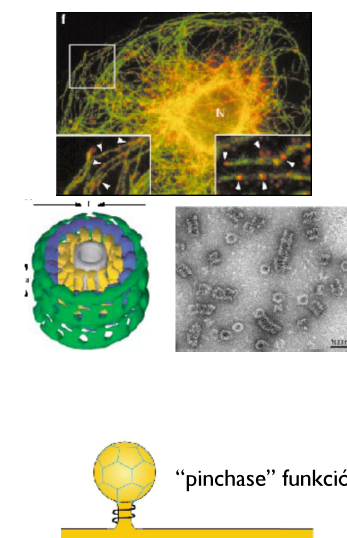
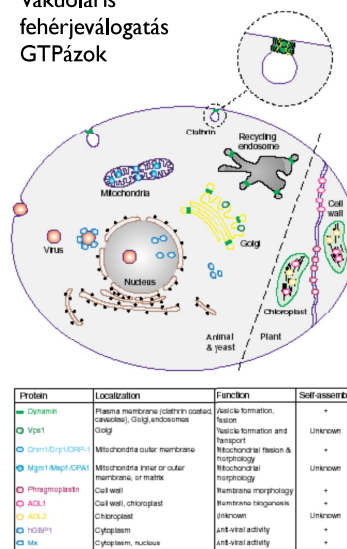
## Kinezin szupercsalád

Processzív motorok, főleg a plusz vég irányába mozognak

# Dinaminok

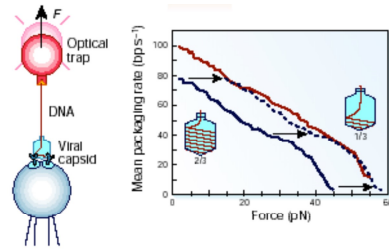
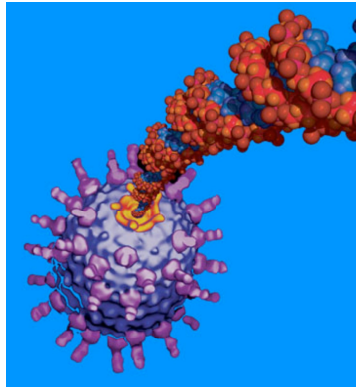


Vakuoláris fehérjeválogatás GTPázok



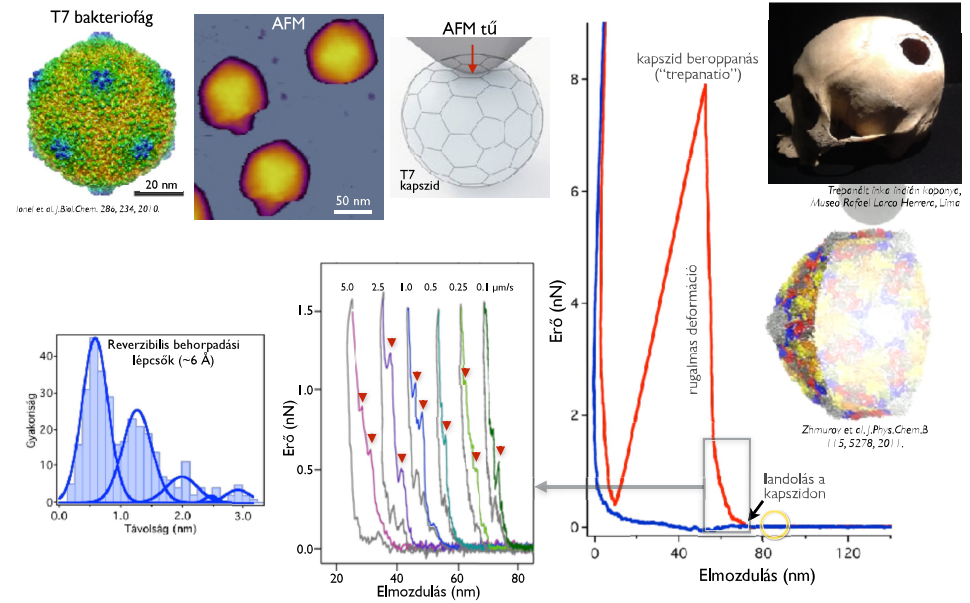


# Vírus portális motor Különleges DNS motor

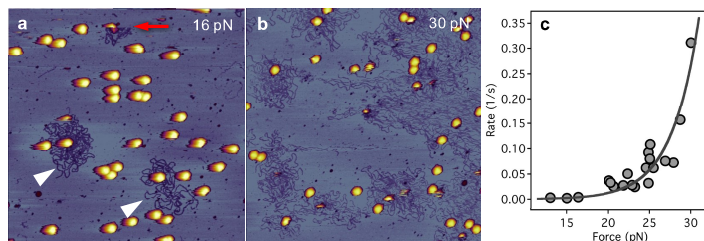
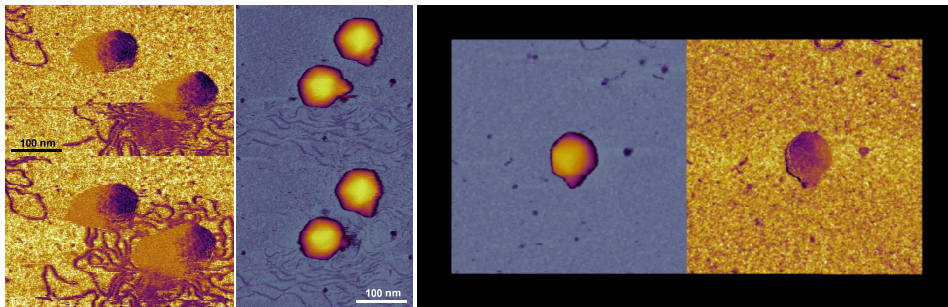


$\phi 29$  bakteriofág portális motor

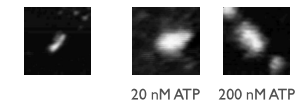
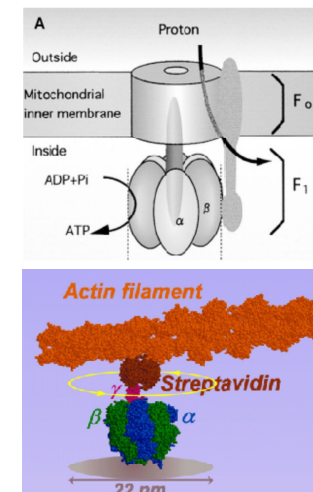
## Vírus kapszid mechanikai beroppantás - irreverzibilis folyamat



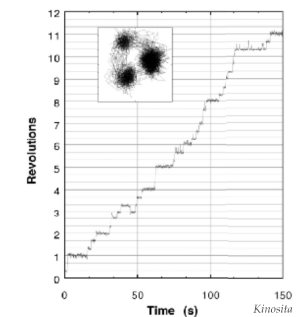
## Mechanikailag vezérelt DNS kilökődés a T7 fágból



## ROTÁCIÓS MOTOROK I: F1F0-ATP SZINTETÁZ



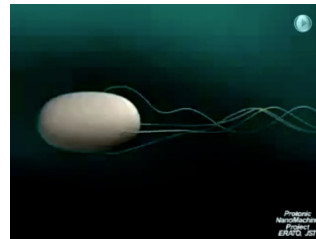
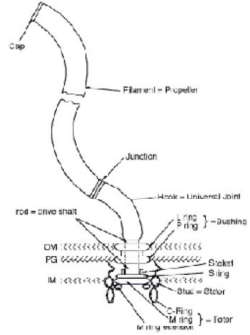
Diszkrét 120° rotációs lépések





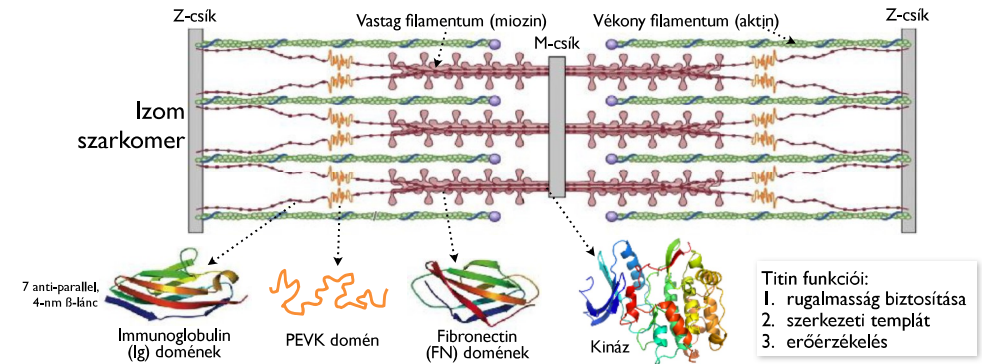
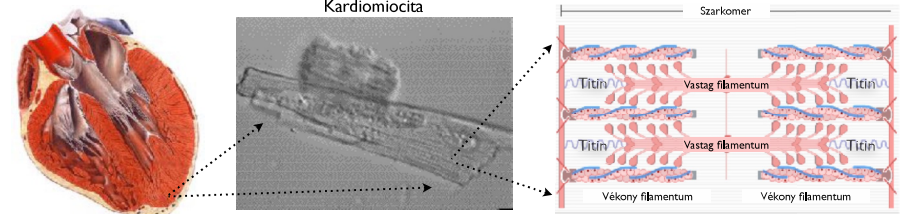
# ROTÁCIÓS MOTOROK II:

## Bakteriális flagellum motor

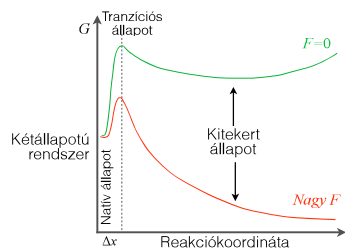
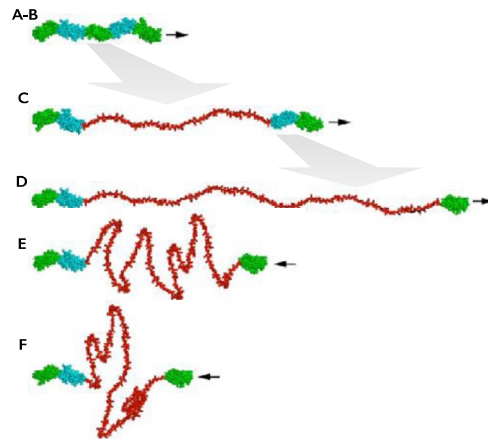
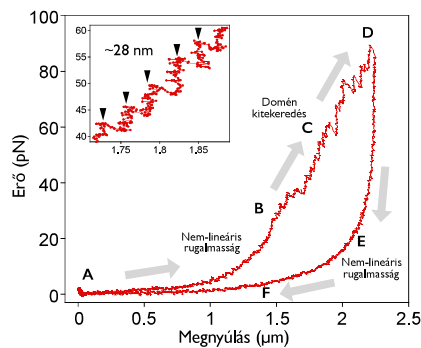


Fordulatszám: > 20000 rpm  
Fogyasztás:  $10^{-16}$  W  
Hatásfok: > 80%  
Energiaforrás: protonok

## Erővezérelt fehérjegyombolyódás: A titin óriás izomfehérje nanomanipulálása



## Erőhatásra a titin kitekeredik



Erővezérelt domén kitekeredési sebesség:

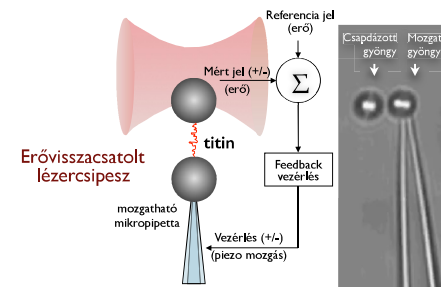
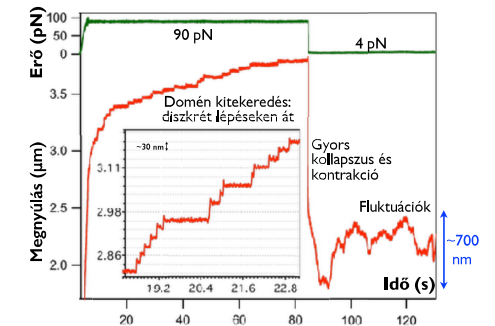
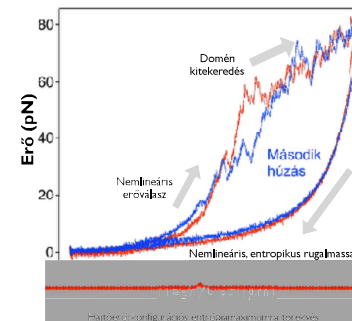
$$k_F = k_0 e^{F\Delta x/k_B T}$$

$k_0$ : spontán kitekeredési sebesség

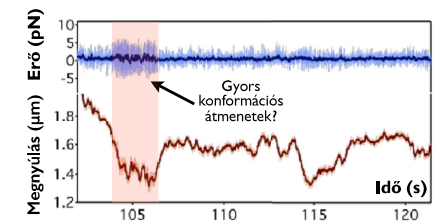
Domén kitekeredés:

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

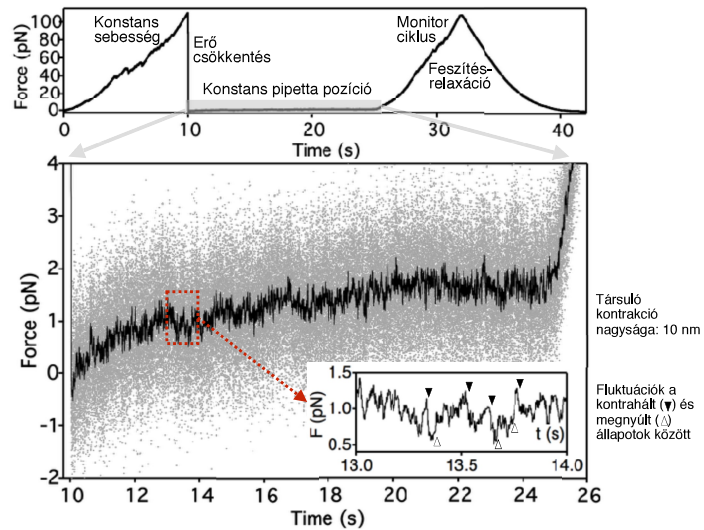
## Hogyan “kontrahál” a titin?



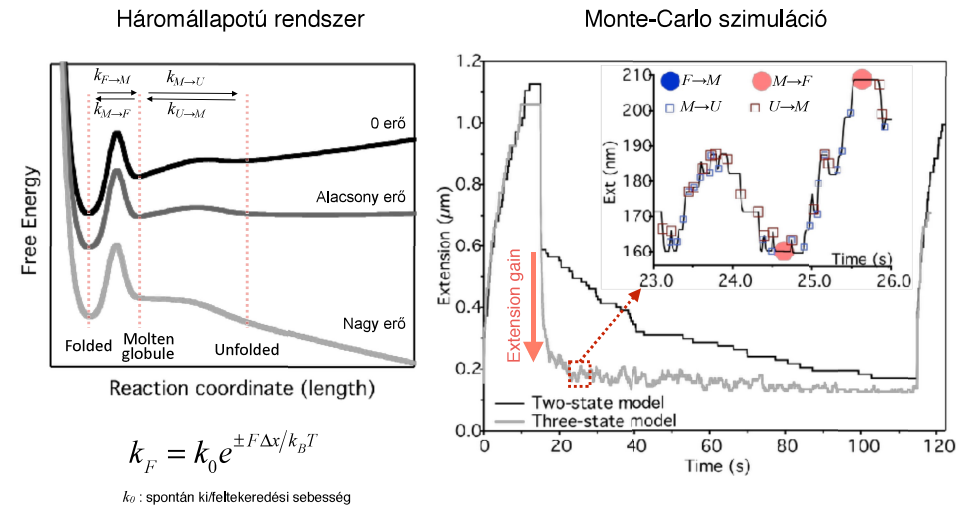
A fluktuációk nem magyarázhatók kétállapotú rendszerrel



## Gombolyodás közben a titin erőt fejleszt



## A fluktuációk megmagyarázhatók egy molten-globule (olvadt gombóc) köztes állapottal



## Mi lehet az olvadt gombóc szerkezete?

