

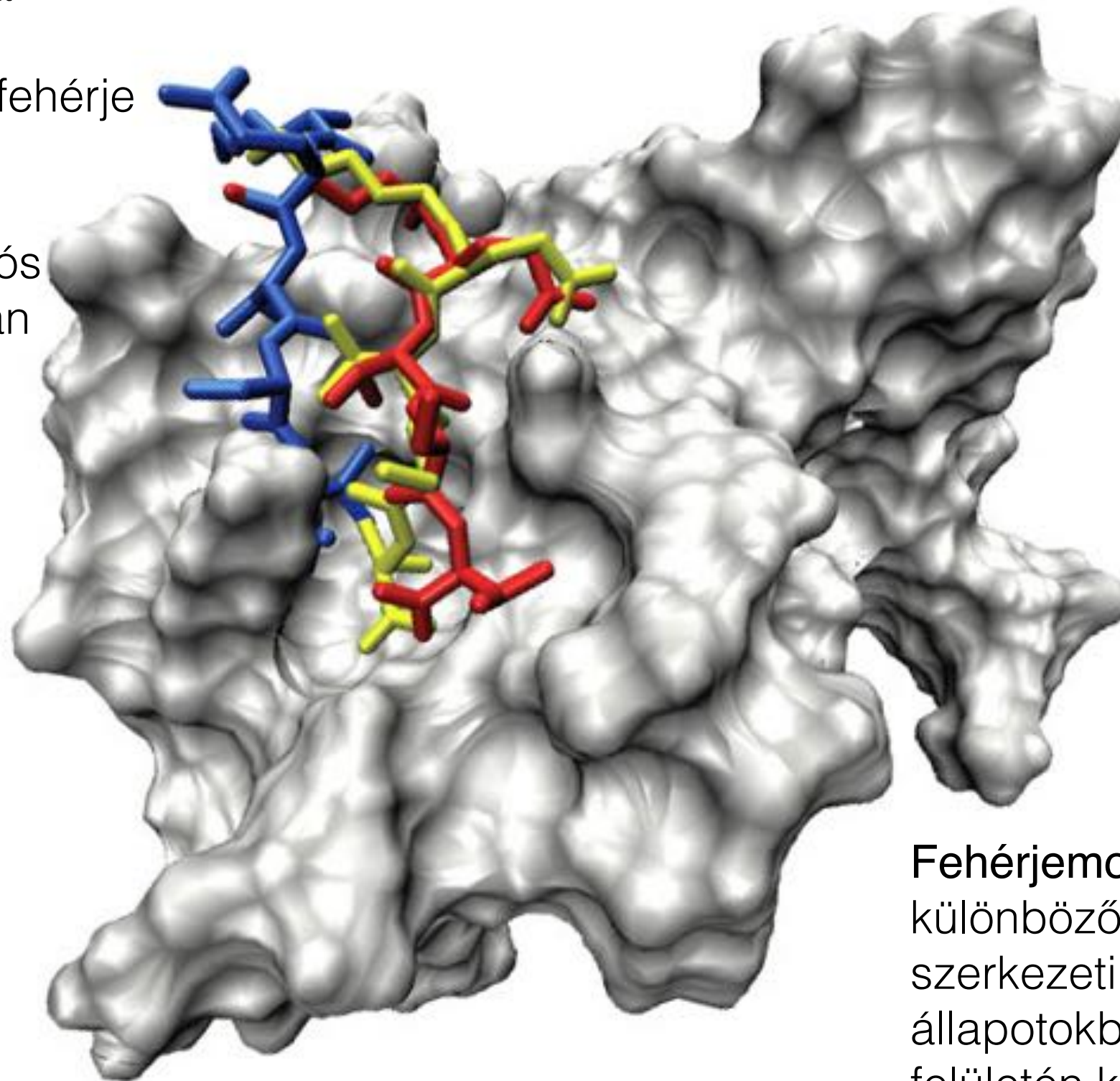
BIOMOLEKULÁRIS SZERKEZET ÉS DINAMIKA:

RÖNTGENKRISZTALLOGRÁFIA,
TÖMEGSPEKTROMETRIA,
RÁDIÓSPEKTROSKÓPIÁK

KELLERMAYER MIKLÓS

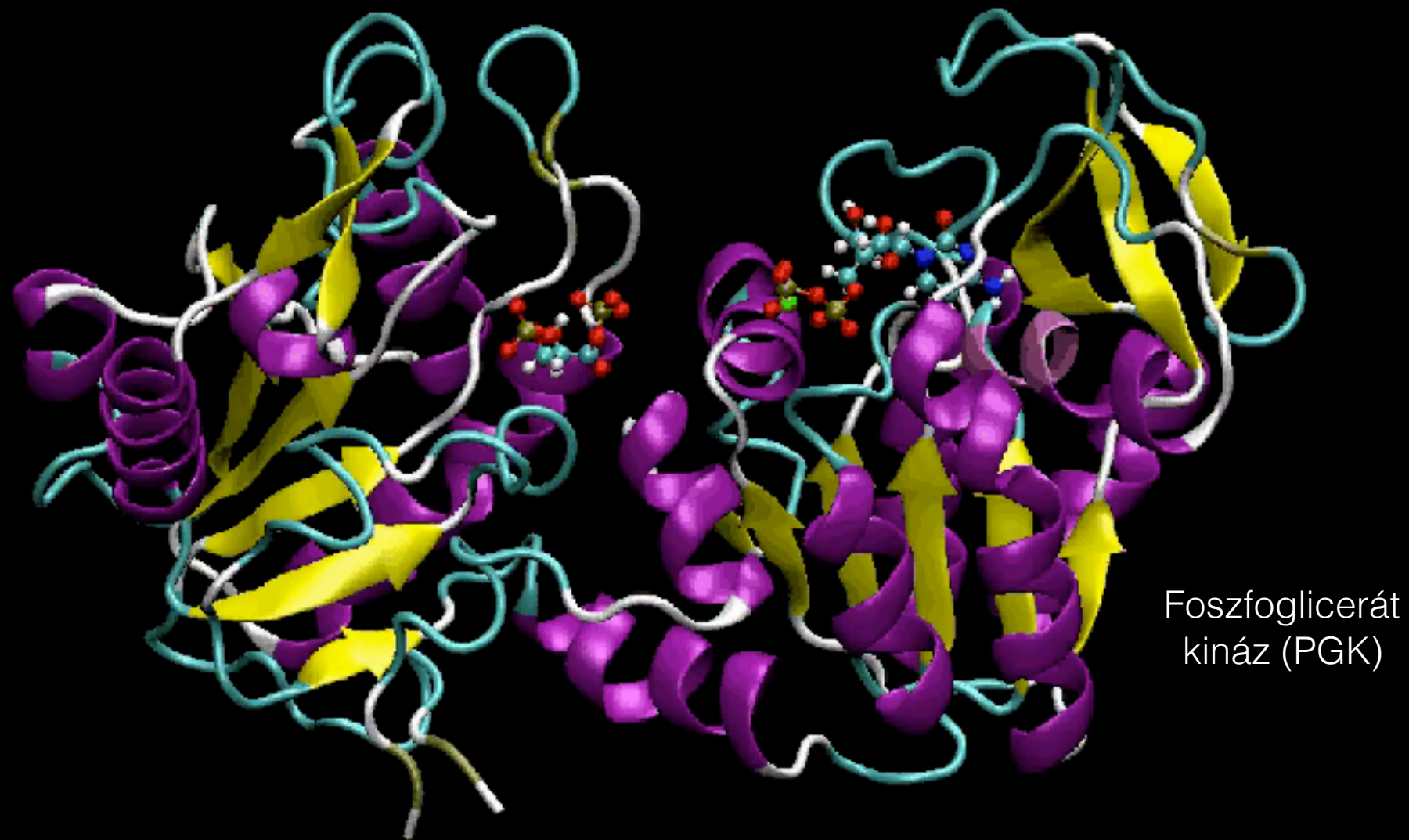
Szerkezet

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



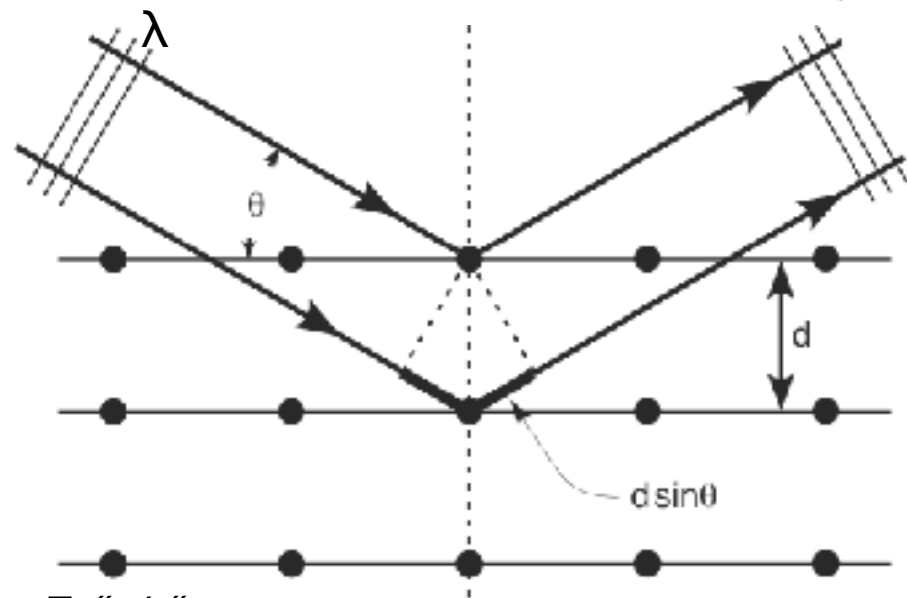
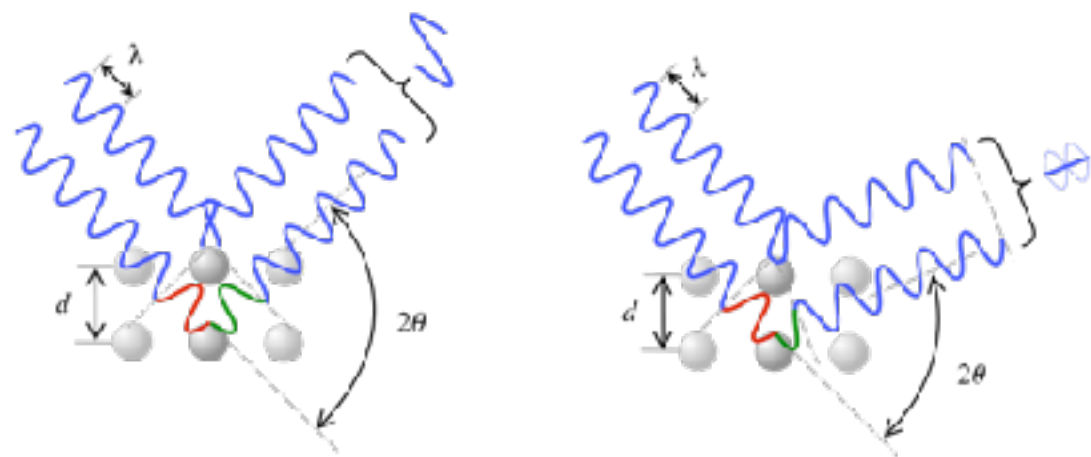
Fehérjemolekula:
különböző
szerkezeti
állapotokban,
felületén kötőhelyek

Dinamika



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.

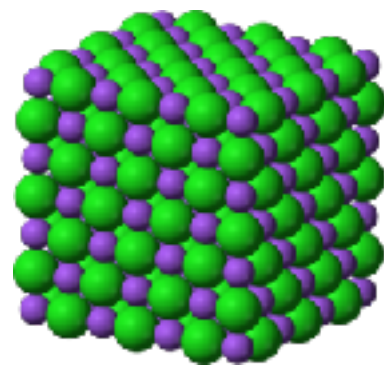
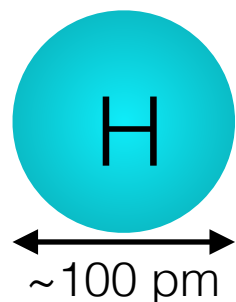
Röntgen-kristallográfia



Erősítő
interferencia
feltétele:

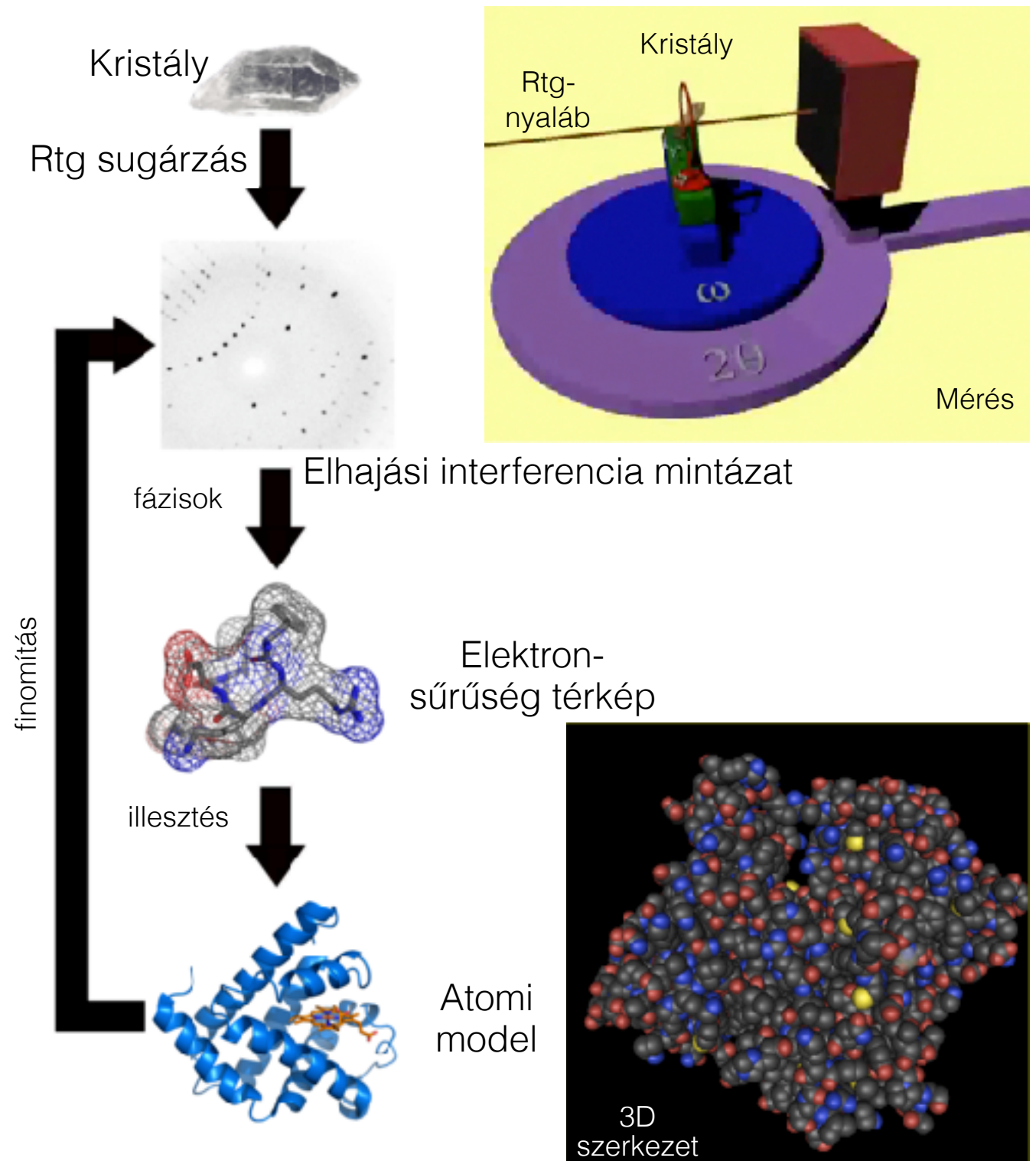
$$2d \sin \theta = n\lambda$$

Milyen rács illik a röntgensugárzáshoz?
 λ_{Rtg} : 10-200 pm



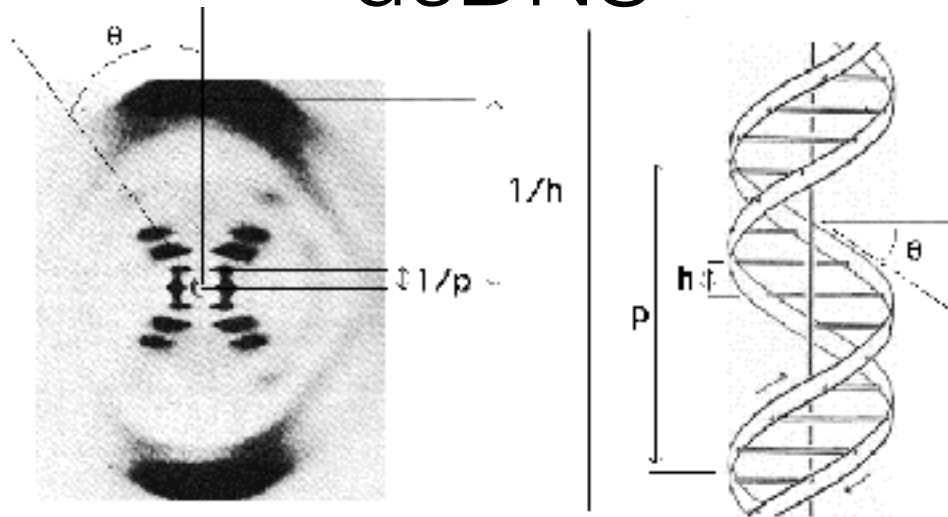
d_{NaCl} :
564 pm

Rtg-diffrakcióval kapott információ:
atomok térbeli koordinátái → molekula
tér szerkezete



Molekulaszerkezet megfejtése röntgen-krisztallográfiával

dsDNS



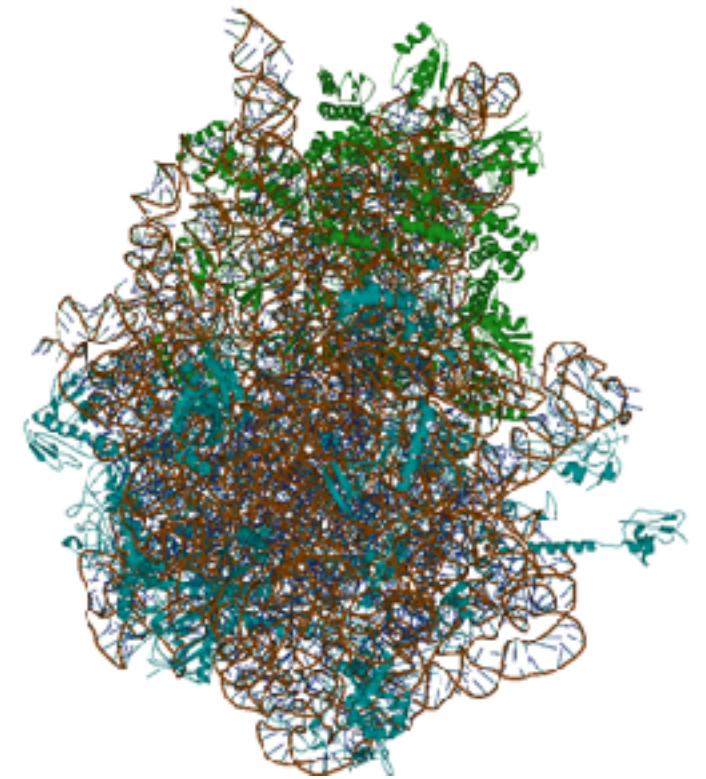
θ hélix dőlésszöge
 $h = 3.4 \text{ \AA}$ bázisok közötti távolság
 $p = 34 \text{ \AA}$ hélix menetemelkedése

Globuláris fehérje:
mioglobín



~1200 atom

Molekulakomplex:
riboszóma



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



J.D. Watson és F. Crick, 1953
Orvosi Nobel-díj 1962



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



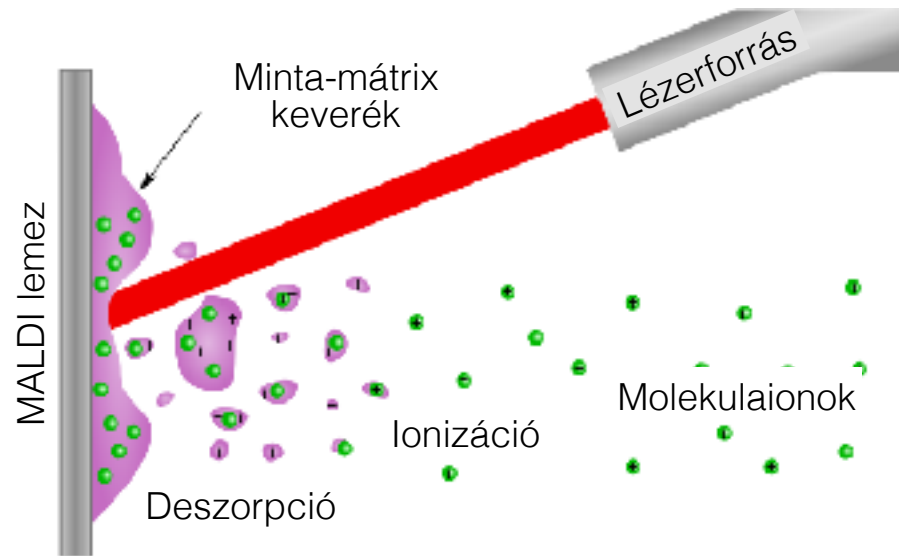
V. Ramakrishnan, T. A. Steitz, A. E. Yonath
Nobel-díj 2009

Tömegspektrometria

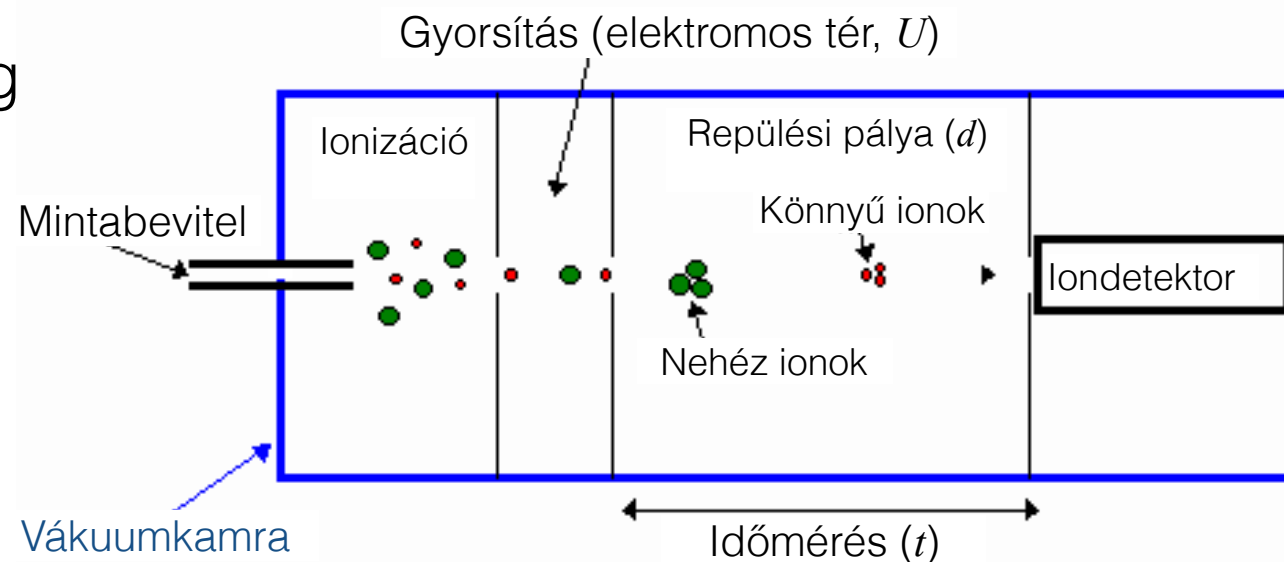
Tömegspektrometria - mass spectrometry (MS): a minta atomjai és molekulái tömegeinek eloszlását mérő analitikai módszer. A tömegspektrum a minta elemi ujjlenyomata.

1. Ionizáció

MALDI: “matrix-assisted laser desorption/ionization”



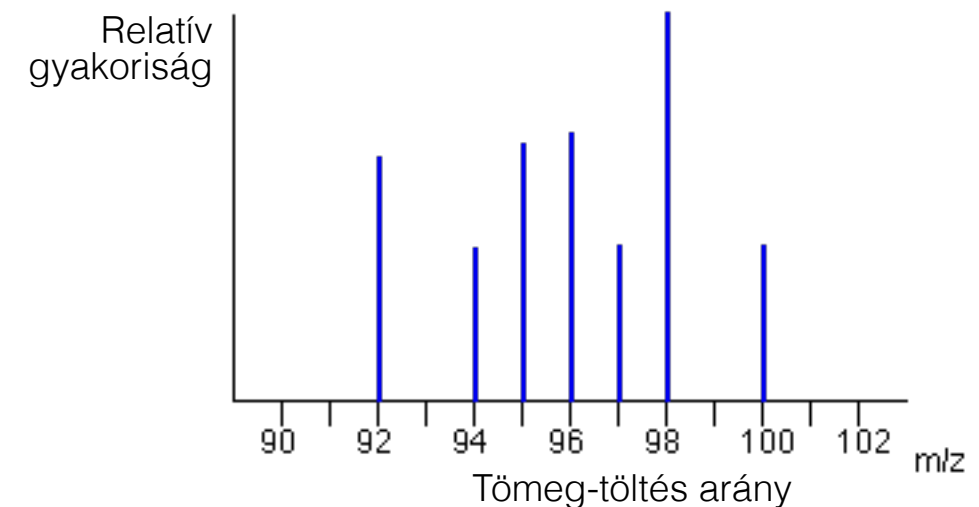
2. Tömeg mérés



3. Analízis

(relatív mennyiség meghatározás)

“Vonal” diagram



A spektrumot szerkezeti adatbázissal vetjük össze

Töltött részecske helyzeti energiája (qU) mozgási energiává alakul:

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

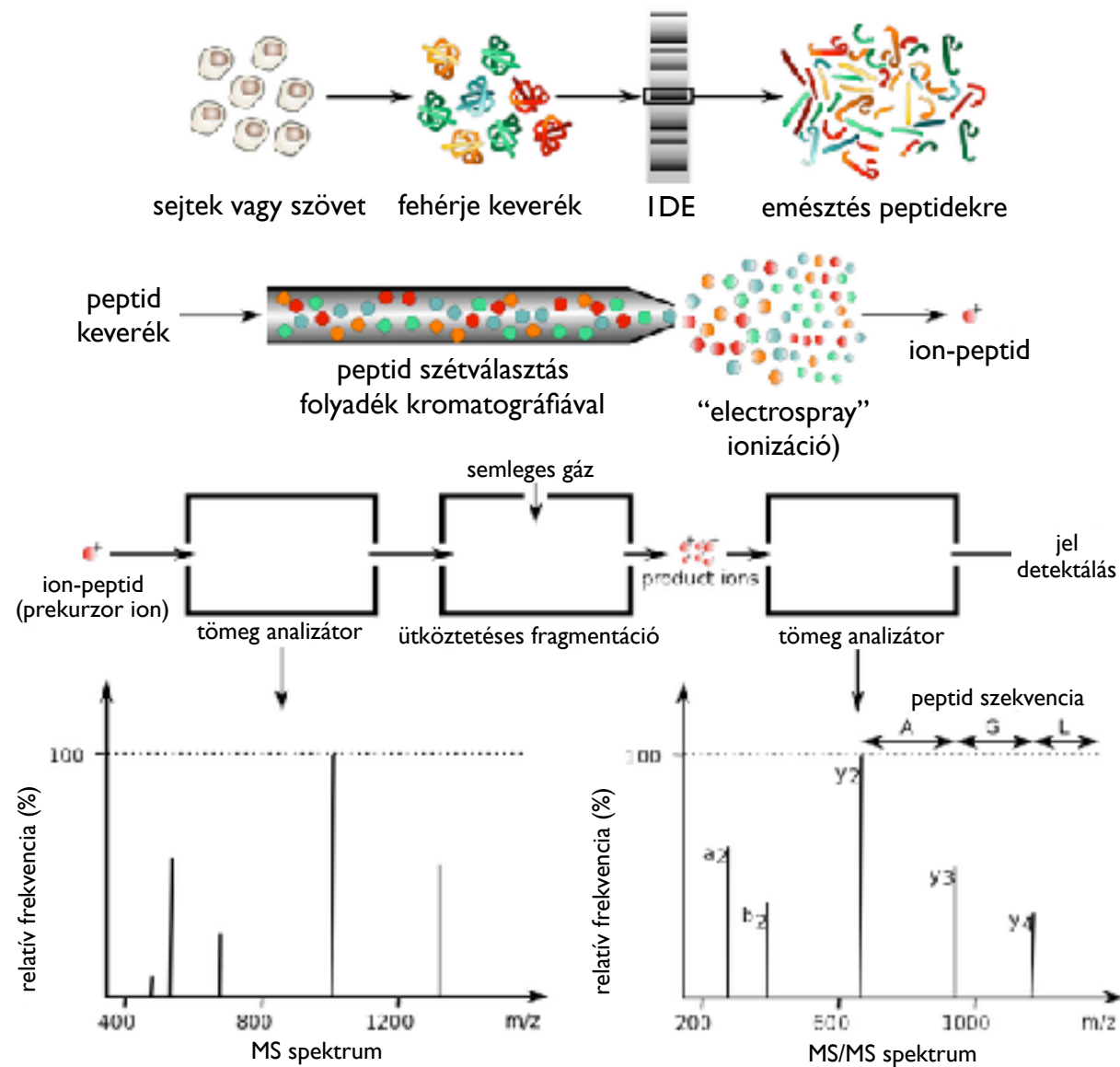
t segítségével a részecskére jellemző m/q meghatározható:

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

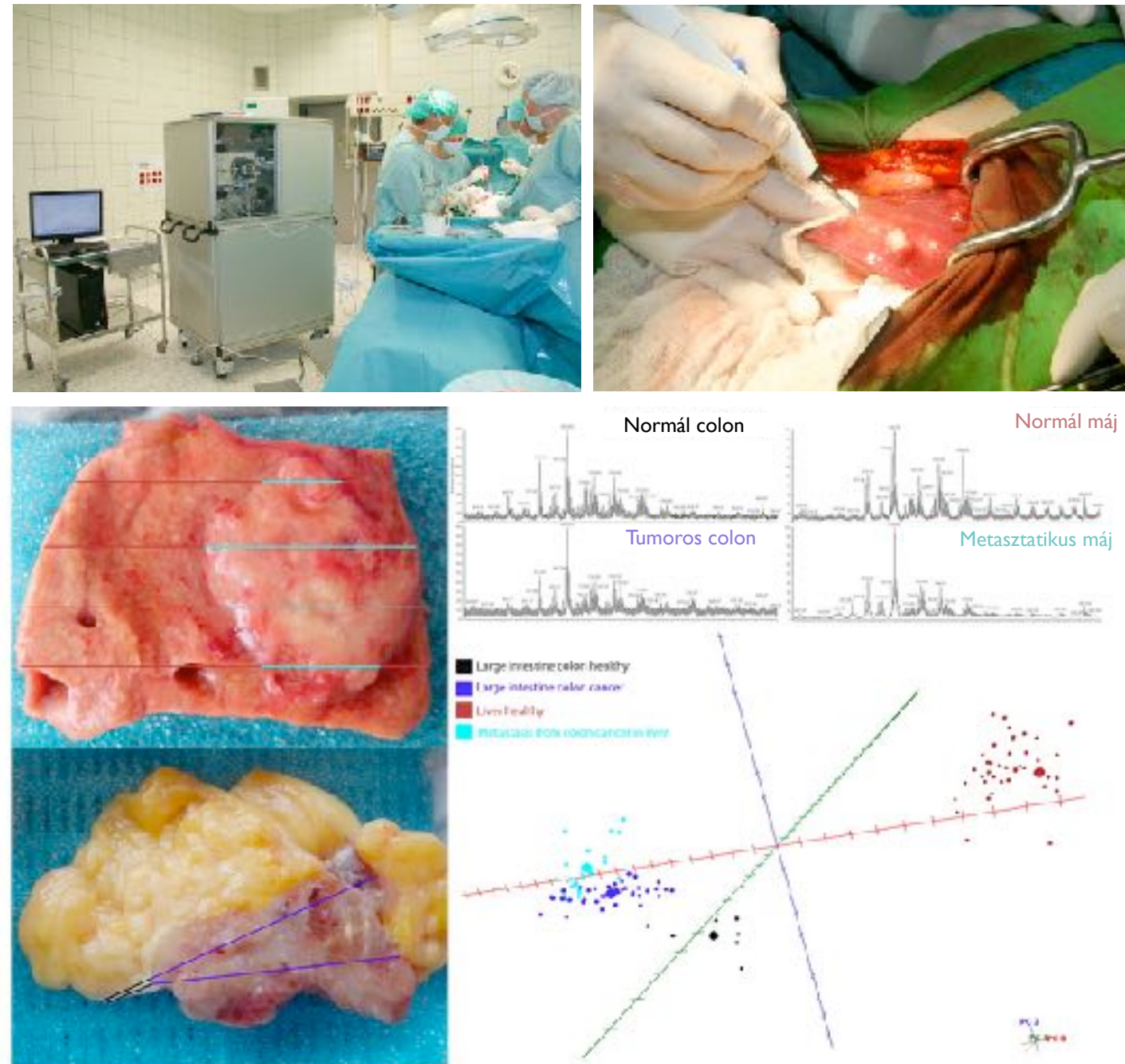
m/q helyett általában az m/z -t használják, ahol $z=q/e$ (dimenzió nélküli szám).

Tömegspektrometriás alkalmazások

1. Fehérje analitika (proteomika)



3. Valós idejű szövetanalízis (“onkokés”)



2. Diagnosztikai szűrővizsgálatok:

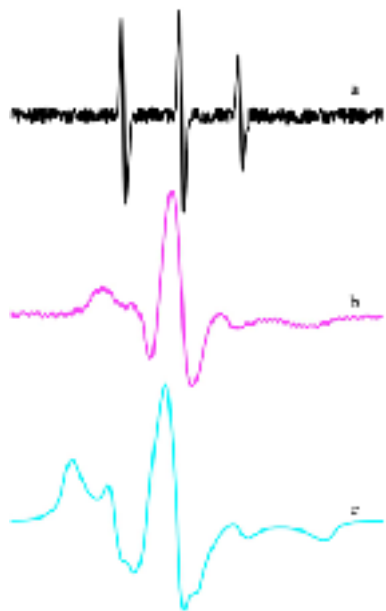
Anyagcserebetegségek (1 csepp vérből)
pl. phenylketonuria (PKU)

“Rádióspektroszkópiák”:

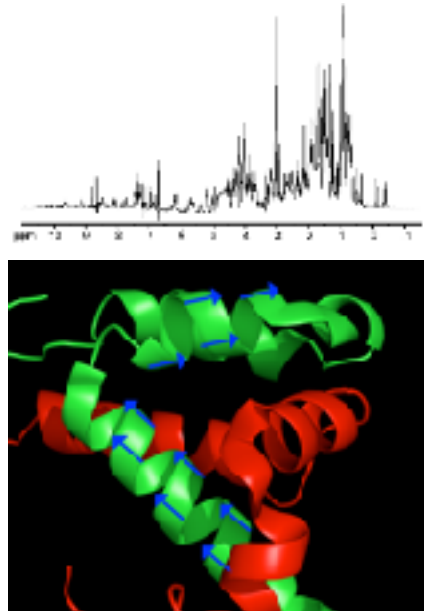
forradalmasították a fizikát, kémiát, biológiát és orvostudományt

- Elektronspin rezonancia (ESR, elektron paramágneses rezonancia - EPR)
- Mágneses magrezonancia (NMR, MRI)

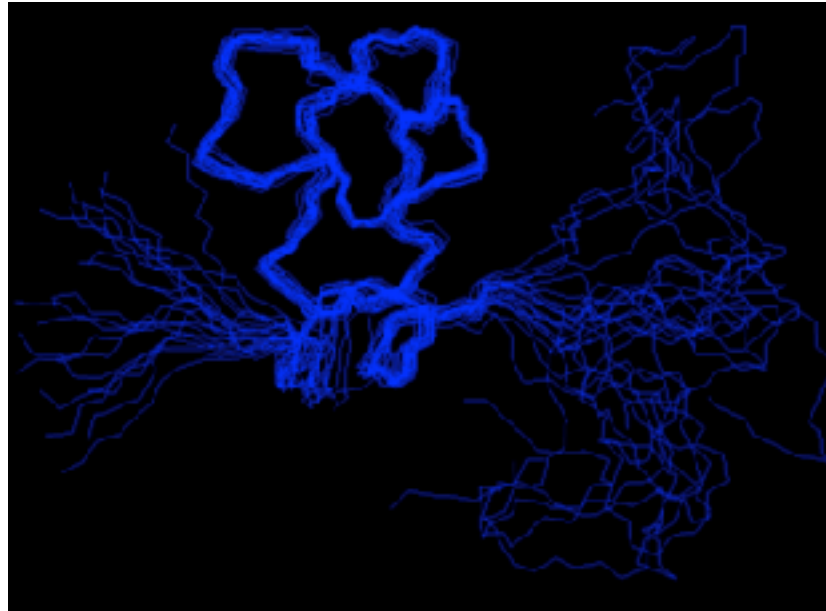
EPR spektroszkópia



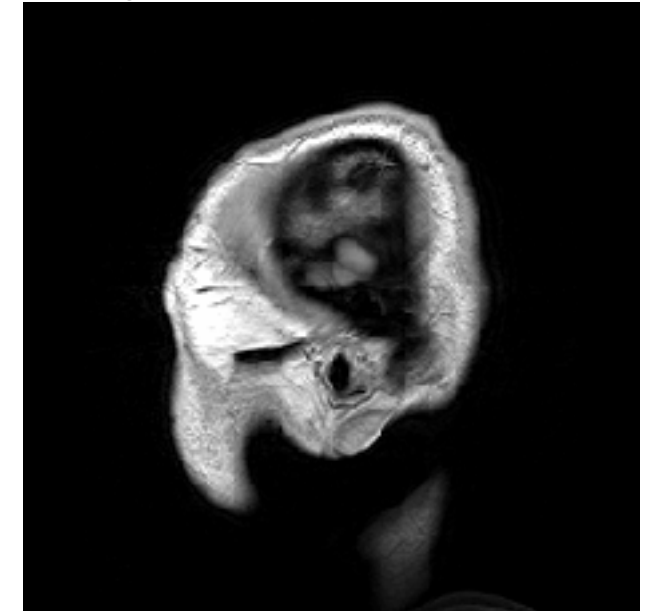
NMR spektroszkópia



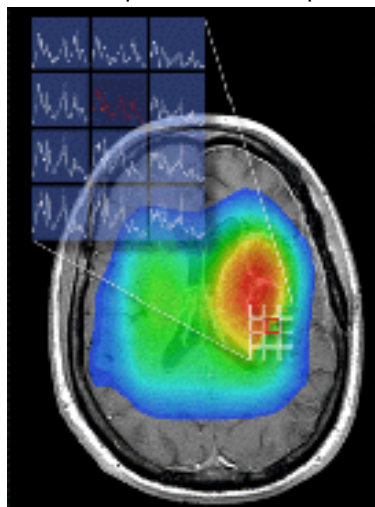
Ferhérje molekuláris dinamika NMR-rel



Nagyfelbontású, anatómiai MRI



MRI spektroszkópia



MRI angiográfia



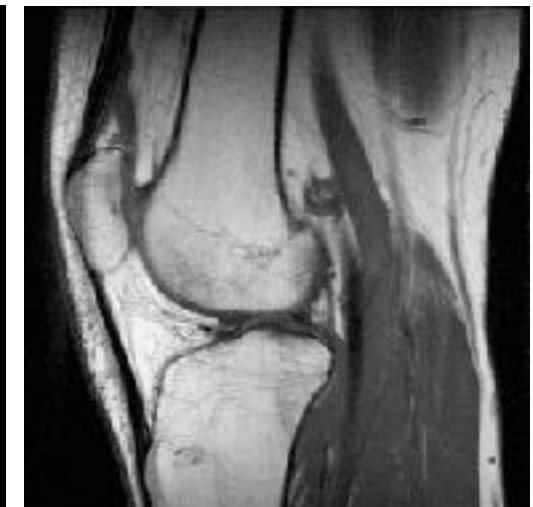
Funkcionális MRI (fMRI)



Diffúziós MRI
(tractographia)



Musculoskeletalis MRI



Atomi, molekuláris rendszerek elemi mágnesként viselkedhetnek

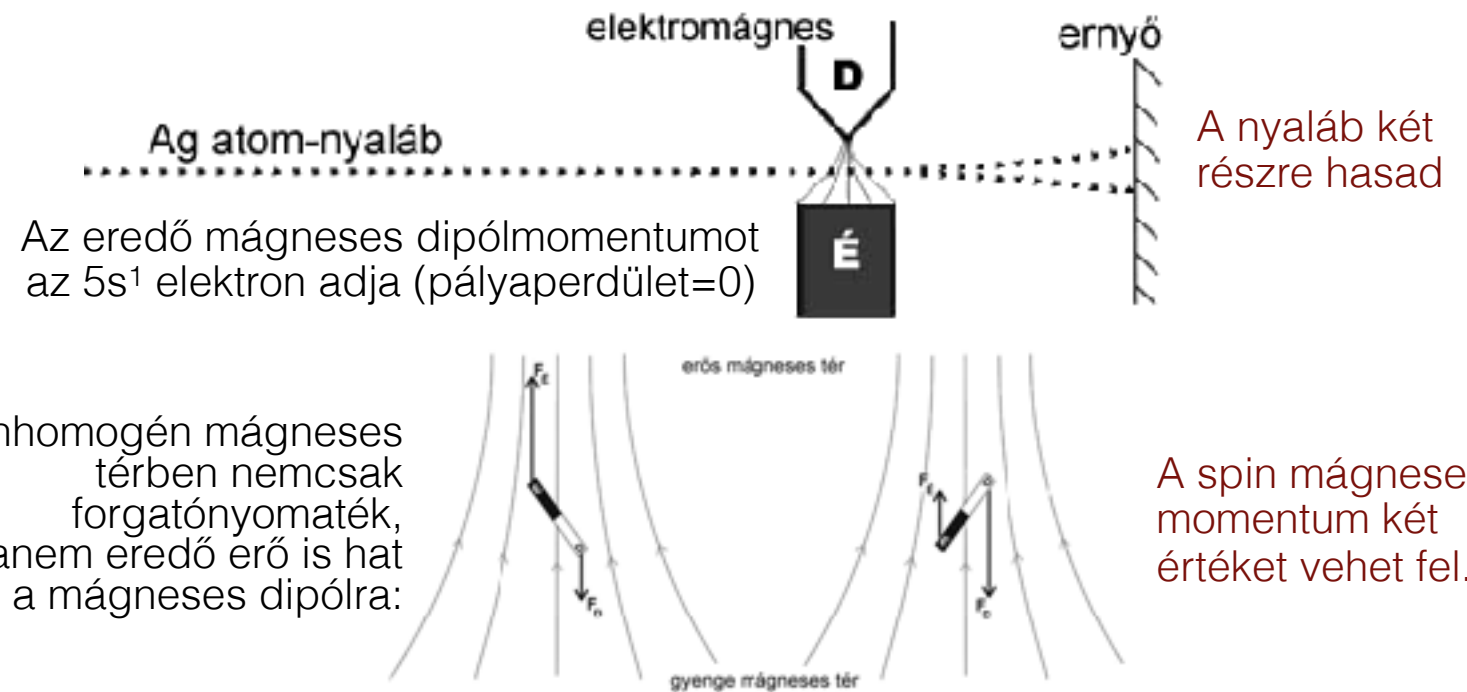
Stern-Gerlach kísérlet (1922)



Otto Stern
(1888-1969)



Walther Gerlach
(1889-1979)



Mágneses magrezonancia ("nuclear magnetic resonance", NMR)
Nobel-díj, 1952



Isidor Rabi
(1898-1988)



Felix Bloch
(1905-1983)

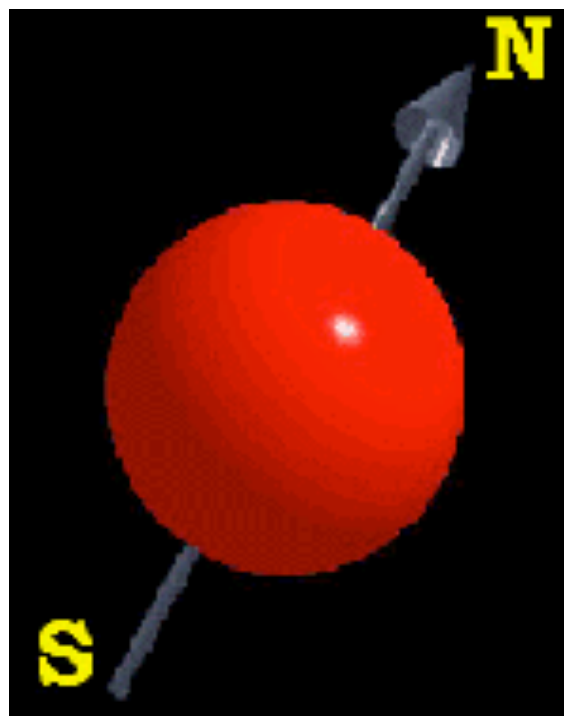


Edward Mills Purcell
(1912-1997)

Mágneses rezonancia: Mágneses térbe helyezett minta általi, rezonancia-abszorpció jellegű elektromágneses energia elnyelés.

Eredő spinnel rendelkező rendszerek: elemi mágnesek

- Elemi részecskék (p, n, e) saját *spinnel* rendelkeznek.
- Elemi részecskék száma és bizonyos rendező elvek (pl. Pauli-elv) miatt *eredő spin* léphet fel.
- Atommag: páratlan tömegszám - feles magspin (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P); páros tömegszám, páratlan rendszám - magspin egész; páros tömegszám és rendszám - magspin zérus.
- Elektron: eredő elektronspin stabil párosítatlan elektront tartalmazó rendszerekben (pl. szabad gyökök).
- *Töltés és eredő spin* miatt *mágneses momentum* lép fel.



Pörgettyűmodell

Magmágneses momentum:

$$M_N = \gamma_N L$$

γ_N = atommag giromágneses hányadosa (mágneses momentum és perdület aránya)

L = magspin ($L = \sqrt{l(l+1)}\hbar$), ahol l =eredő spinkvantumszám.

Elektronspin mágneses momentuma:

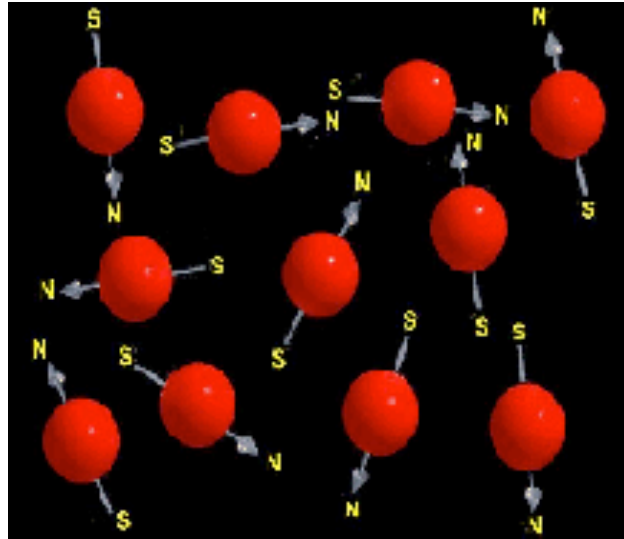
$$M_e = -g\mu_\beta \sqrt{S(S+1)}$$

g = elektron g-faktora (a mágneses momentum és giromágneses hányados kapcsolatát leíró dimenzió nélküli arányszám)

μ_β = Bohr magneton (az elektron mágneses dipólmomentum egysége)

S = spinkvantumszám

Mágneses térben a spinek orientálódnak

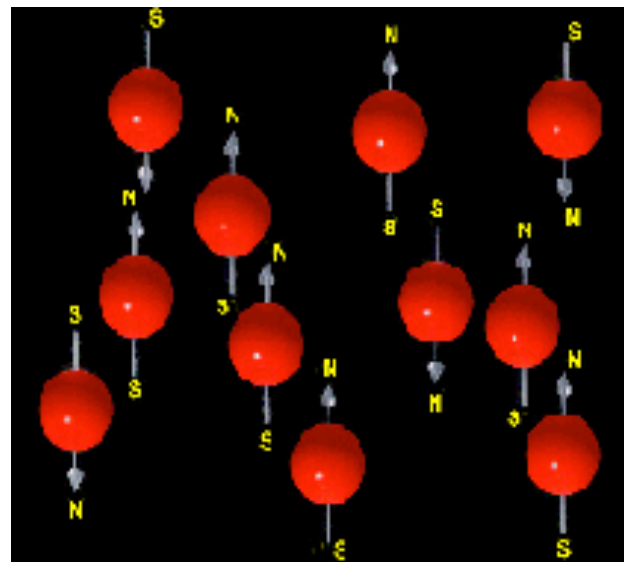


Mágneses tér hiányában:

elemi mágnesek orientációja random

Paramágnesség: külső mágneses tér hatására fellépő mágnesezettség (mágneses dipólok orientációja).

Mágneses térben:



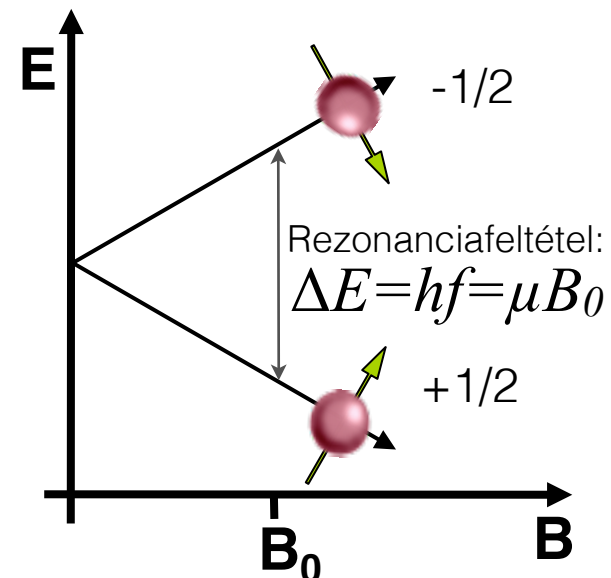
elemi mágnesek orientálódnak

B_0

parallel

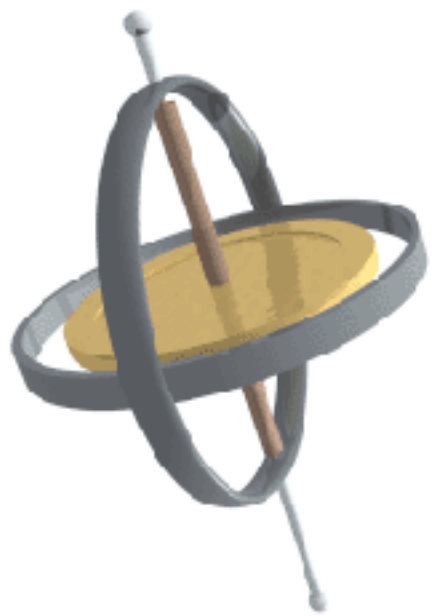
antiparallel

energiaszintek felhasadnak

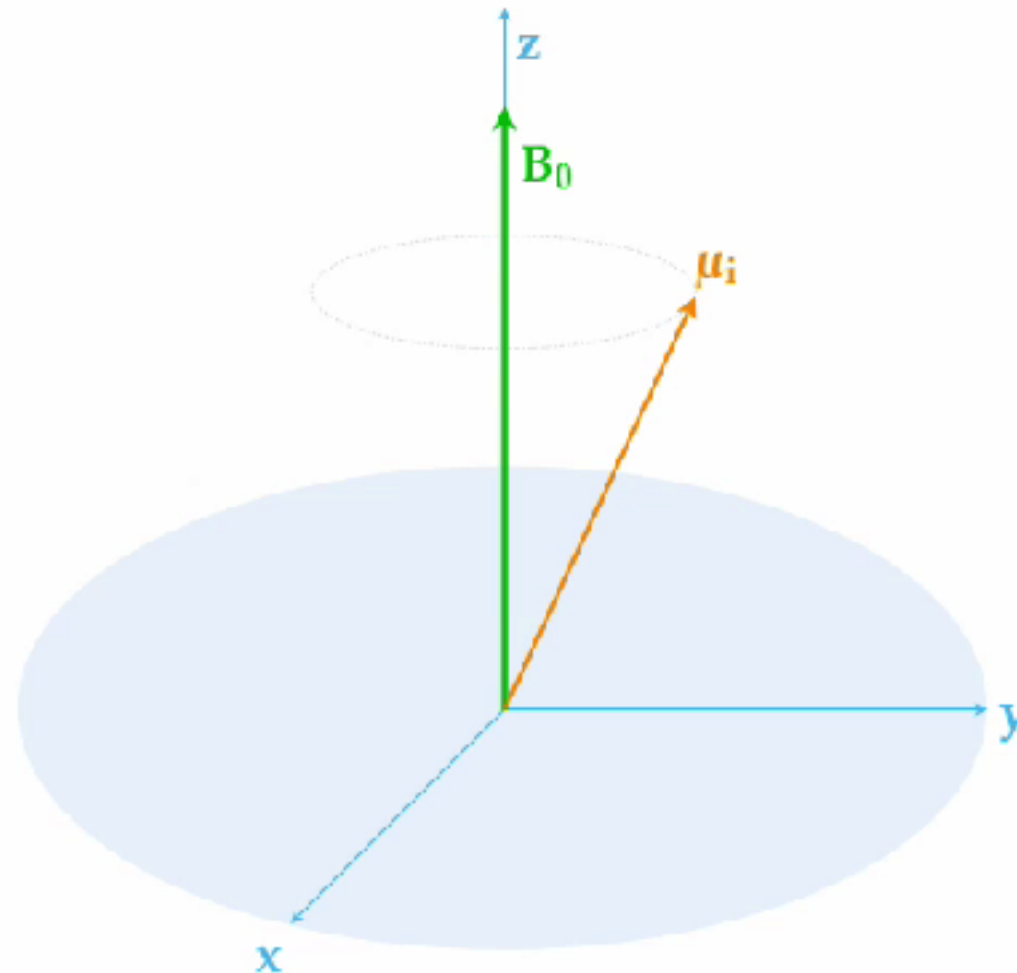


Edward Purcell, 1946

Az orientált spinek precessziós mozgást végeznek



Pörgettyű, giroszkóp



Precessziós vagy
Larmor frekvencia:

$$\omega_0 = \gamma B_0$$

$$f_{Larmor} = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$$

Rezonanciafeltétel:

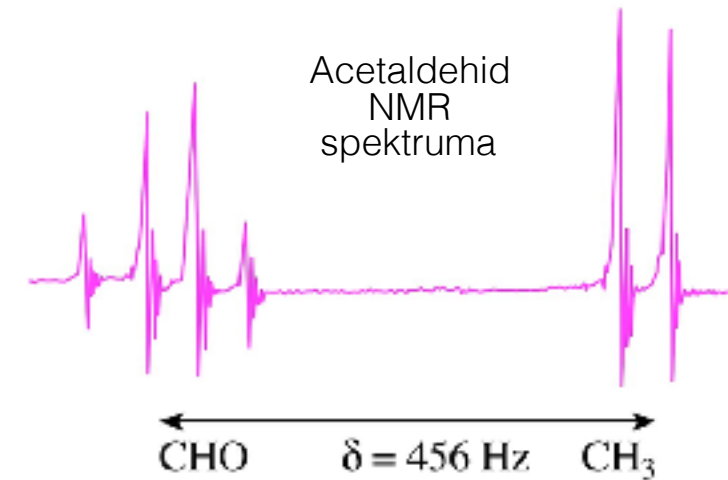
$$\Delta E = \frac{h\omega_0}{2\pi}$$



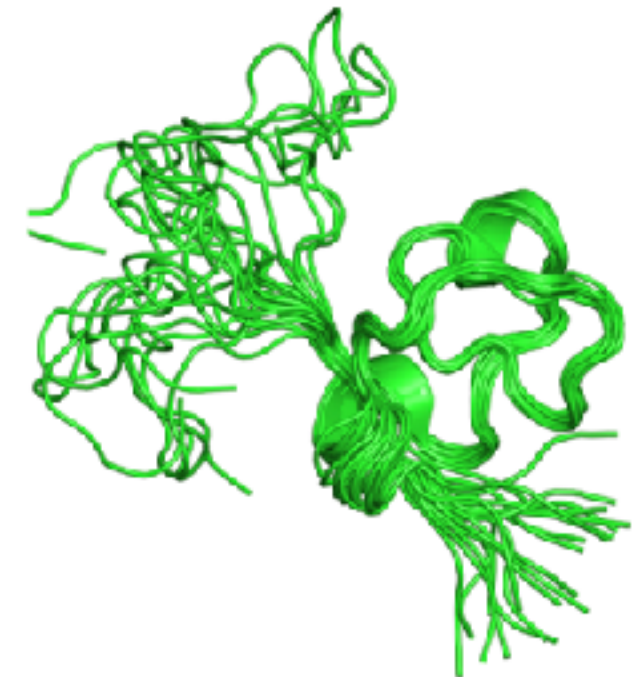
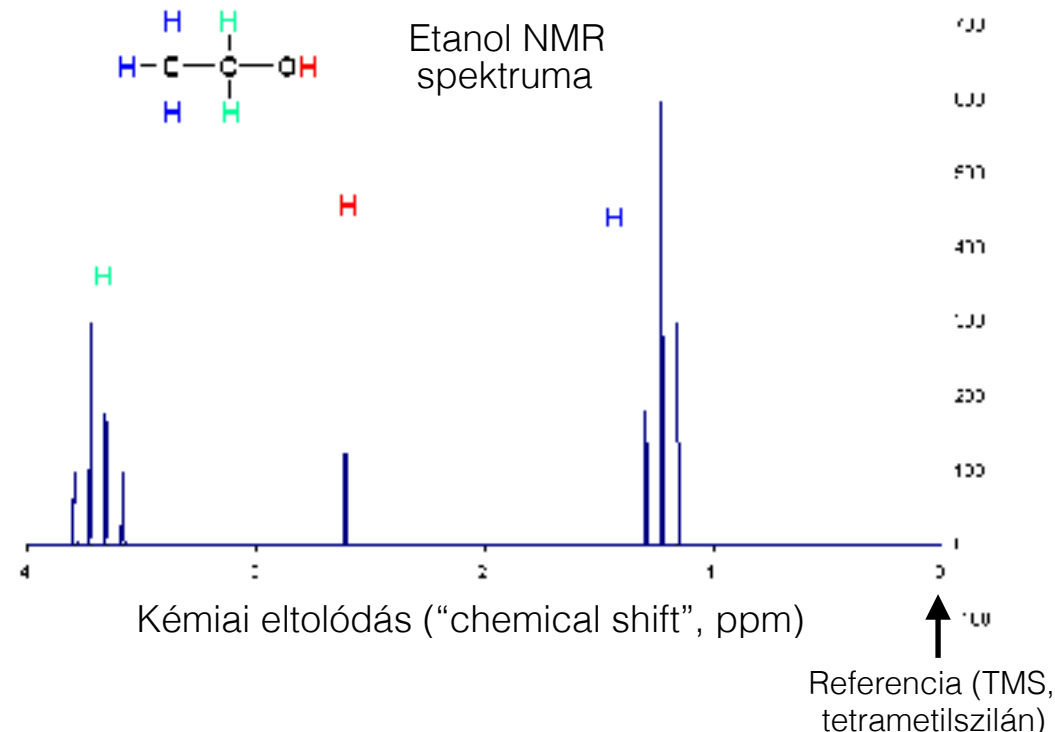
Felix Bloch, 1946

NMR spektroszkópia

- NMR spektroszkópia vagy Mágneses Rezonancia Spektroszkópia (MRS)
- Spektroszkópai módszer az atommagok körüli lokális mágneses tér mérésére. A mágneses térbe helyezett atommagok rezonanciafrekvenciáit mérjük meg.
- NMR spektrométer: Folyékony He által hűtött mágnes, nagy mágneses térerő (spektrális felbontás a térerővel egyenesen arányos)
- NMR spektrum: elnyelt elektromágneses sugárzás intenzitása frekvencia függvényében.
- “NMR-vonal” görbe alatti területe az abszorbeáló atommagok számával arányos.
- Elektronfelhő (i.e., annak szerkezete) befolyásolja a lokális mágneses teret: frekvenciafeltétel elhangolódik (“kémiai eltolódás”). Kémiai szerkezetmeghatározás lehetősége.
- Fehérje NMR: dinamika mérésének lehetősége, rendezetlen fehérje elemek detektálása



900 MHz NMR, 21.1 T mágnes



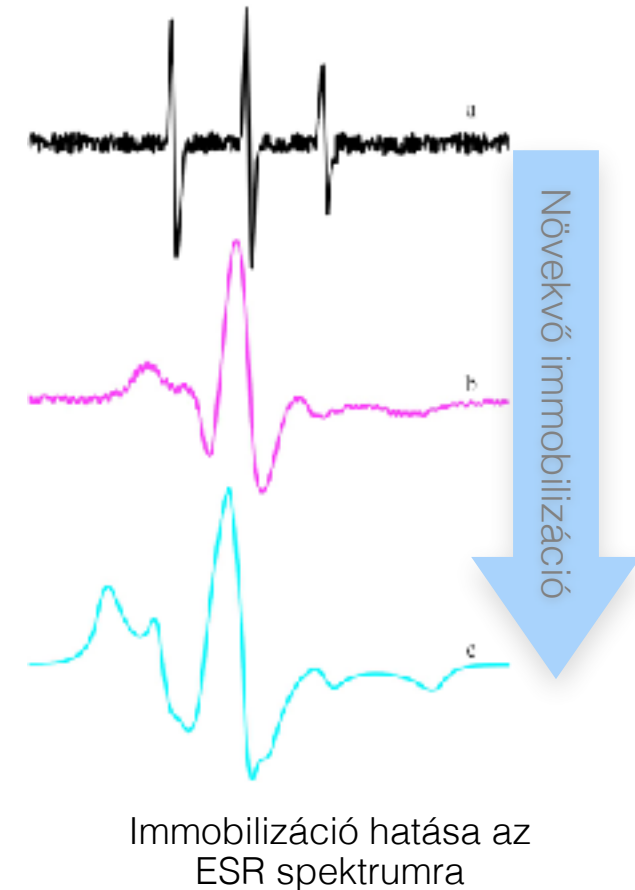
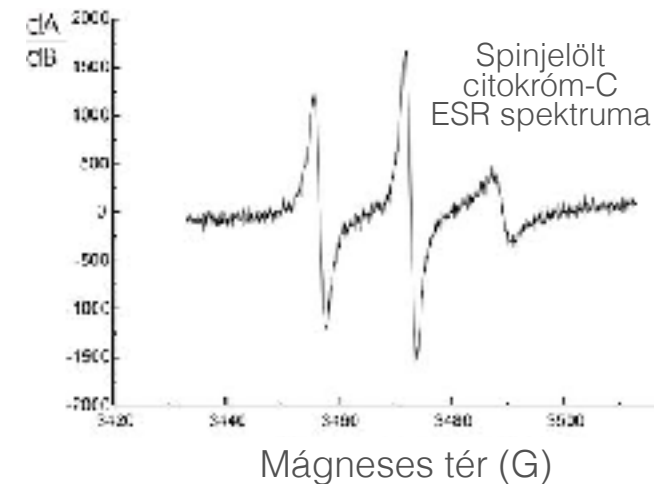
Somatomedin B domén
(szuperponált szerkezetek)

ESR spektroszkópia

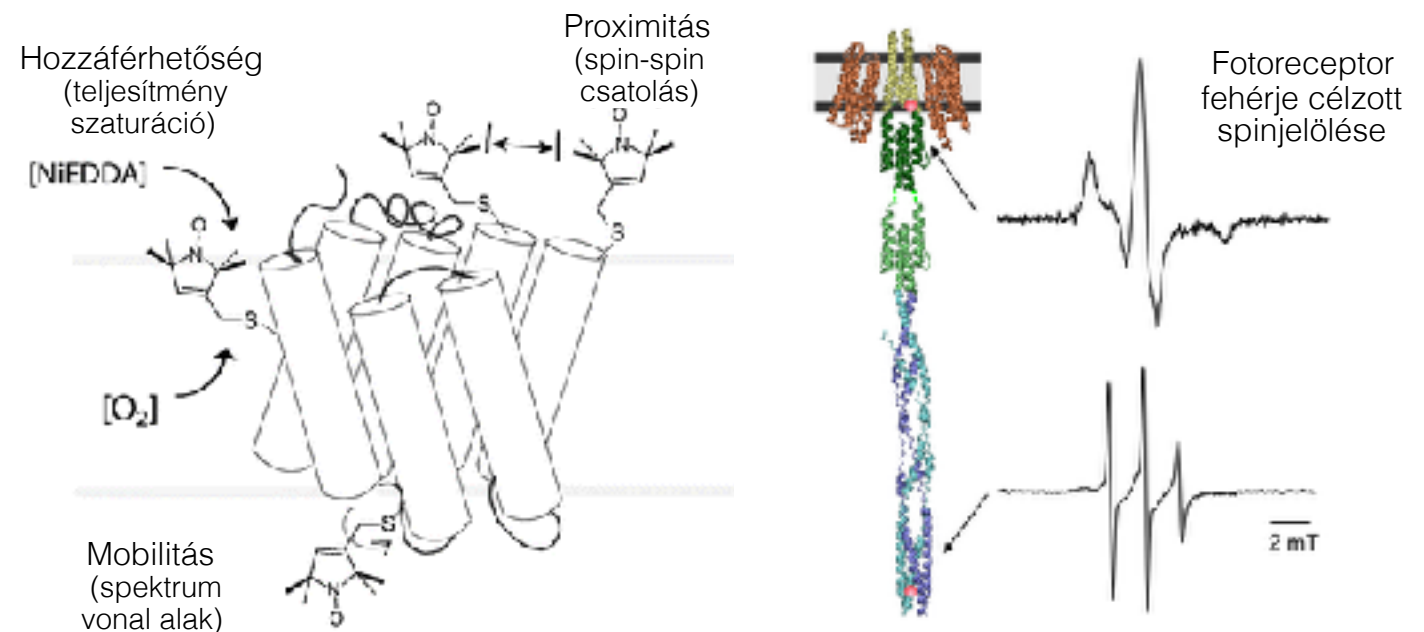
- Elektronspin rezonancia (ESR) vagy elektron paramágenses rezonancia (EPR) spektroszkópia
- Spektroszkópai módszer a páratlan elektront tartalmazó anyagok vizsgálatára.
- ESR spektrum: elnyelt elektromágneses sugárzás intenzitása a mágneses tér függvényében.
- NMR-énél alacsonyabb mágneses tér, de nagyobb elektromágneses sugárzási frekvenciák (mikrohullám).
- Spin-jelölés: stabil párosítatlan elektront tartalmazó vegyülettel való jelölés. "Site-directed" (célzott) spinjelölés: pontmutációval tervezetten bevitt reaktív aminosav oldalláncok (-SH) spinjelölése.
- Mozgási (rotációs) sebességek mérési lehetősége a 10^{-4} - 10^{-2} s időtartományban.



Jevgenyij Zavoisky, 1944



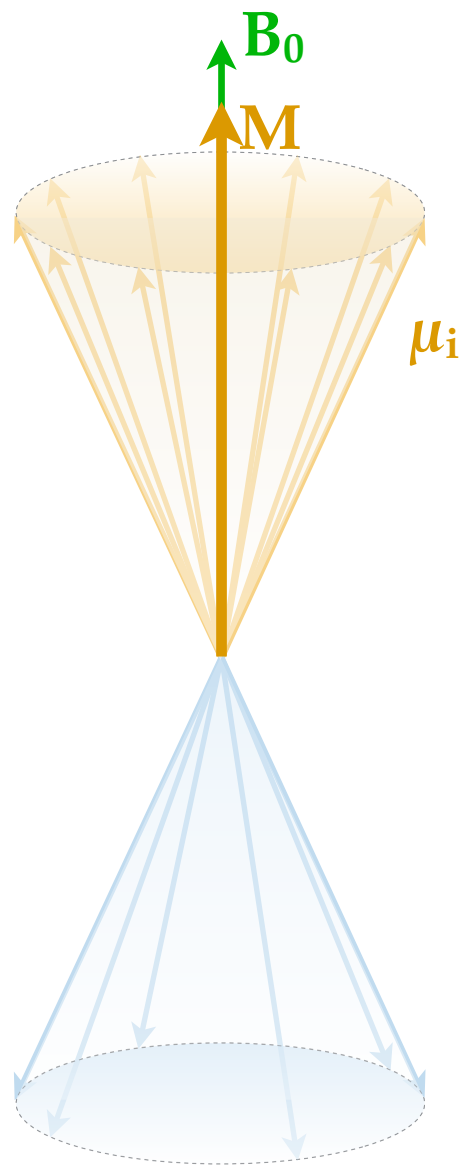
"Site-directed" (célzott) spinjelölés



Makroszkópos mágnesezettség

Különböző energiaszinteken spintöbbslet miatt

Alacsony energiájú állapot
parallel a proton esetében



B_0 = mágneses tér
 M = makroszkópikus
mágnesezettség

Nagy energiájú állapot
antiparallel a proton esetében

A nagy (parallel) ill.
alacsony (antiparallel)
energiájú spinállapotok
aránya:

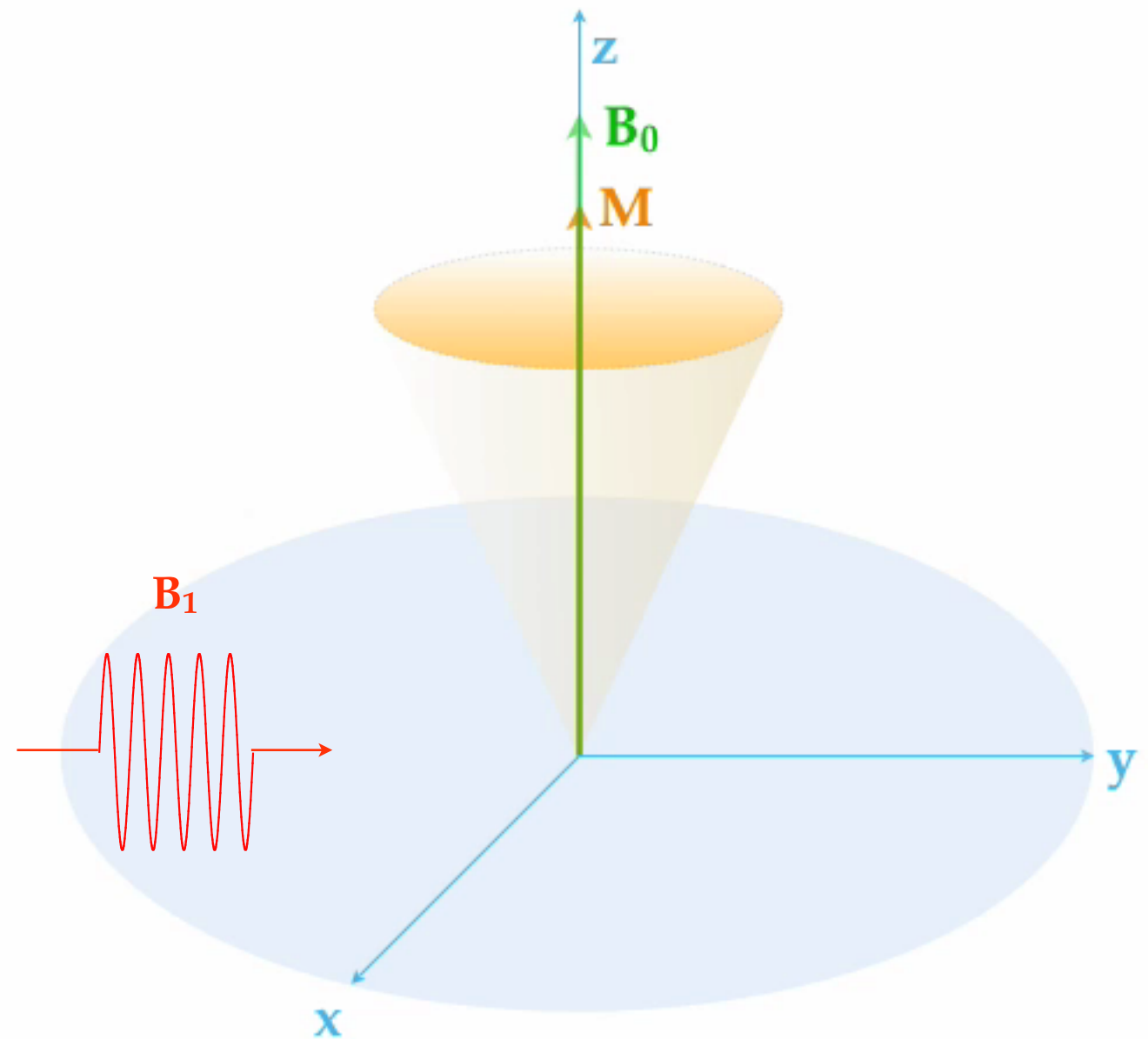
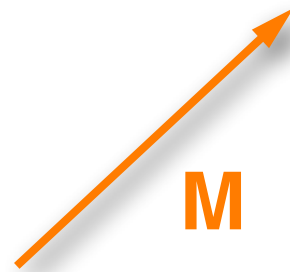
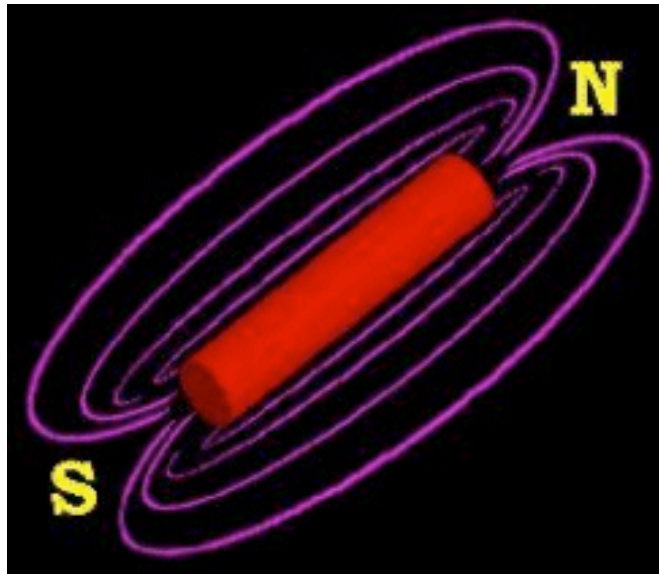
$$\frac{N_{antiparallel}}{N_{parallel}} = e^{-\frac{\Delta E}{k_B T}}$$

(Boltzmann-eloszlás)

MRI-ben alkalmazott mágneses térerő:
Föld mágneses térerejének 20-50
ezerszerese

Gerjesztés

Rezonancia feltétel: Larmor frekvencia



B_0 = mágneses tér

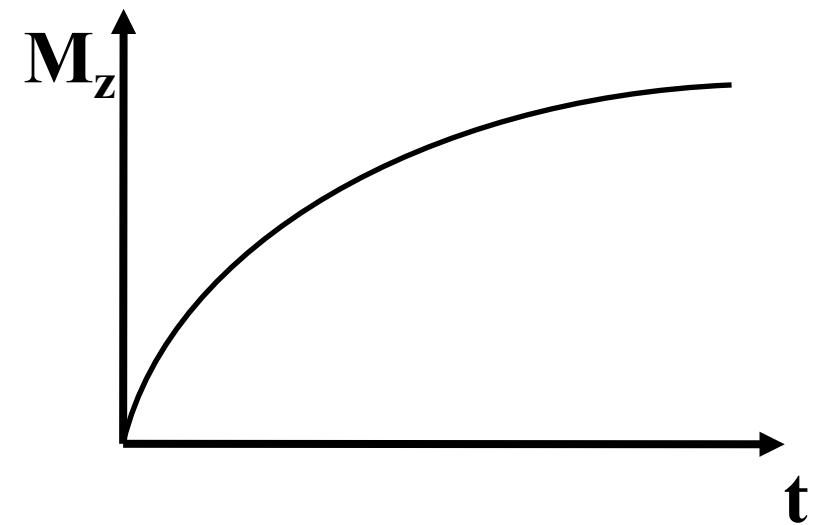
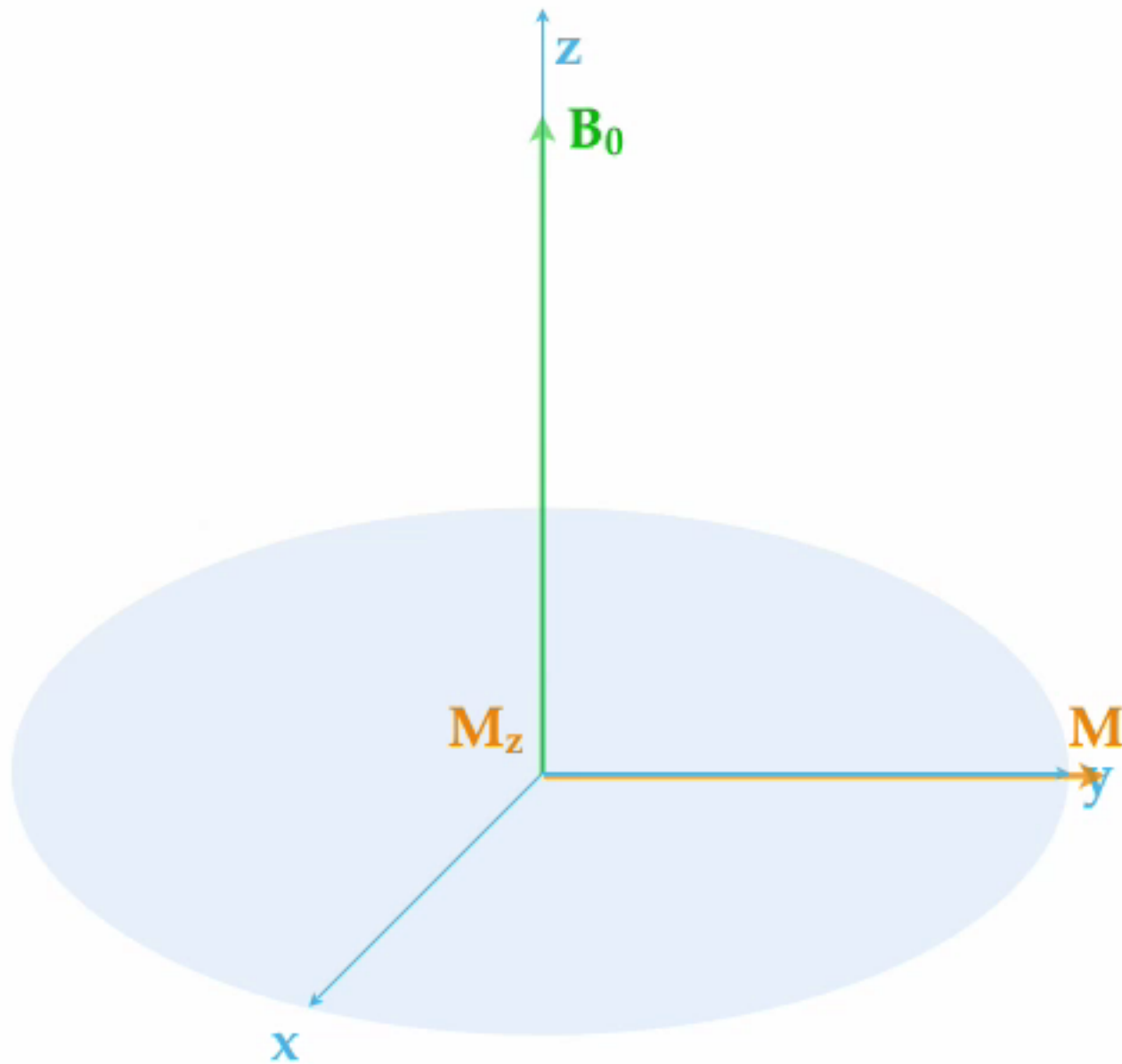
M = makroszkópos mágnesezettség

B_1 = besugárzott elektromágneses tér

MRI-ben alkalmazott
elektromágneses sugárzás:
Rádiófrekvencia

Spin-rács relaxáció

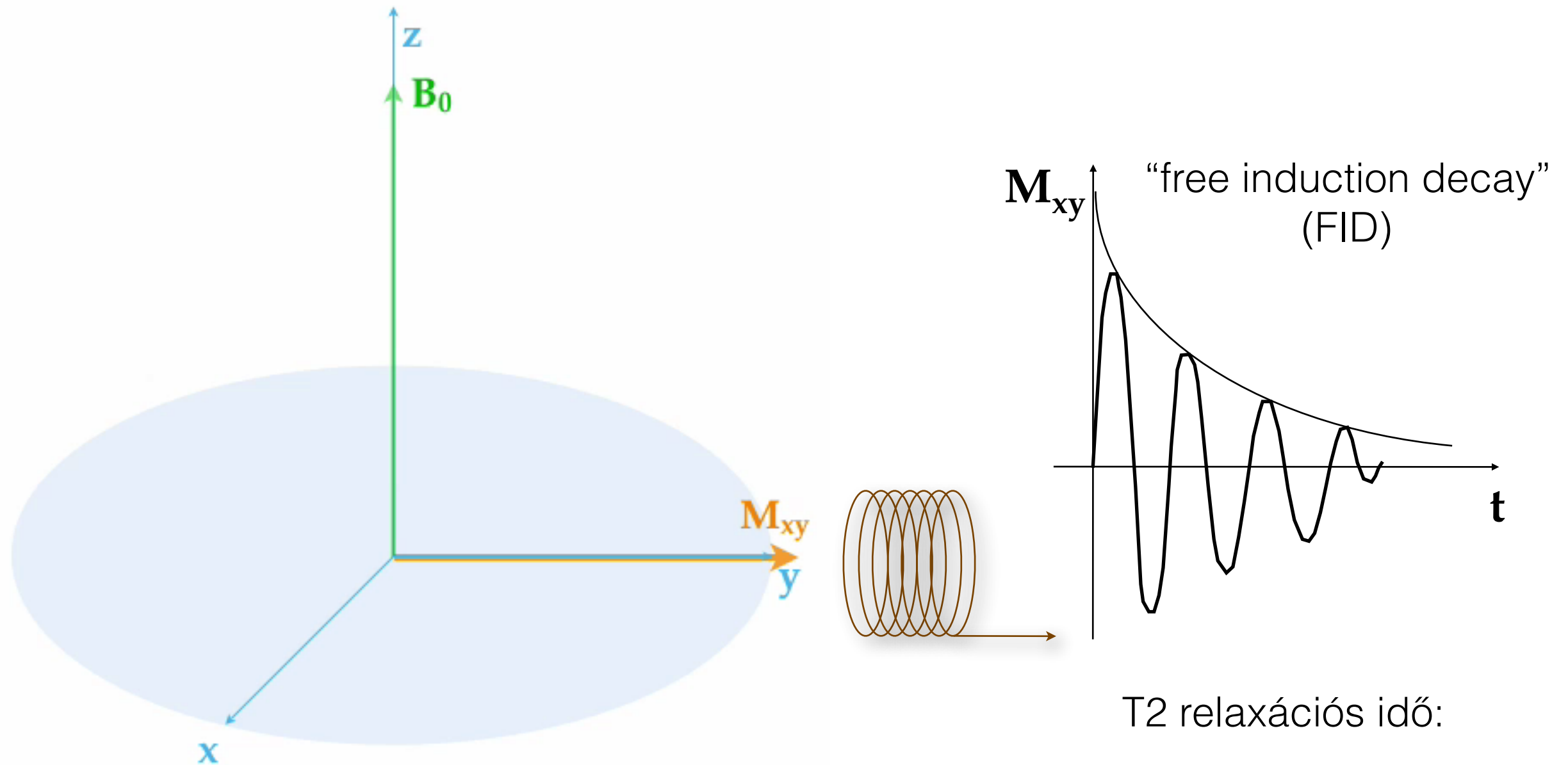
T1 vagy longitudinális relaxáció



T1 relaxációs idő:
elemi mágnes (proton) és
környezete közötti kölcsönhatásra utal

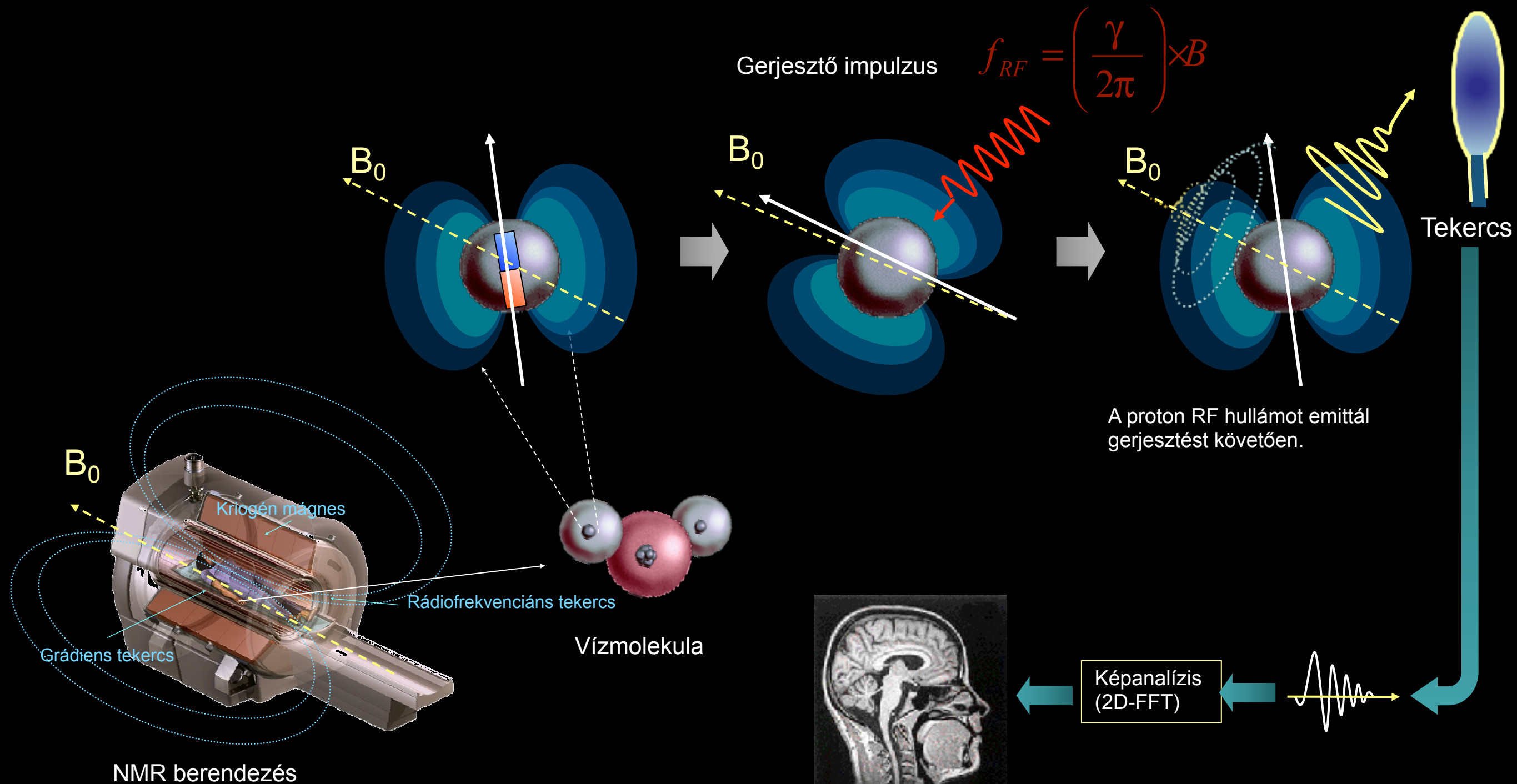
Spin-spin relaxáció

T2 vagy tranzverzális relaxáció



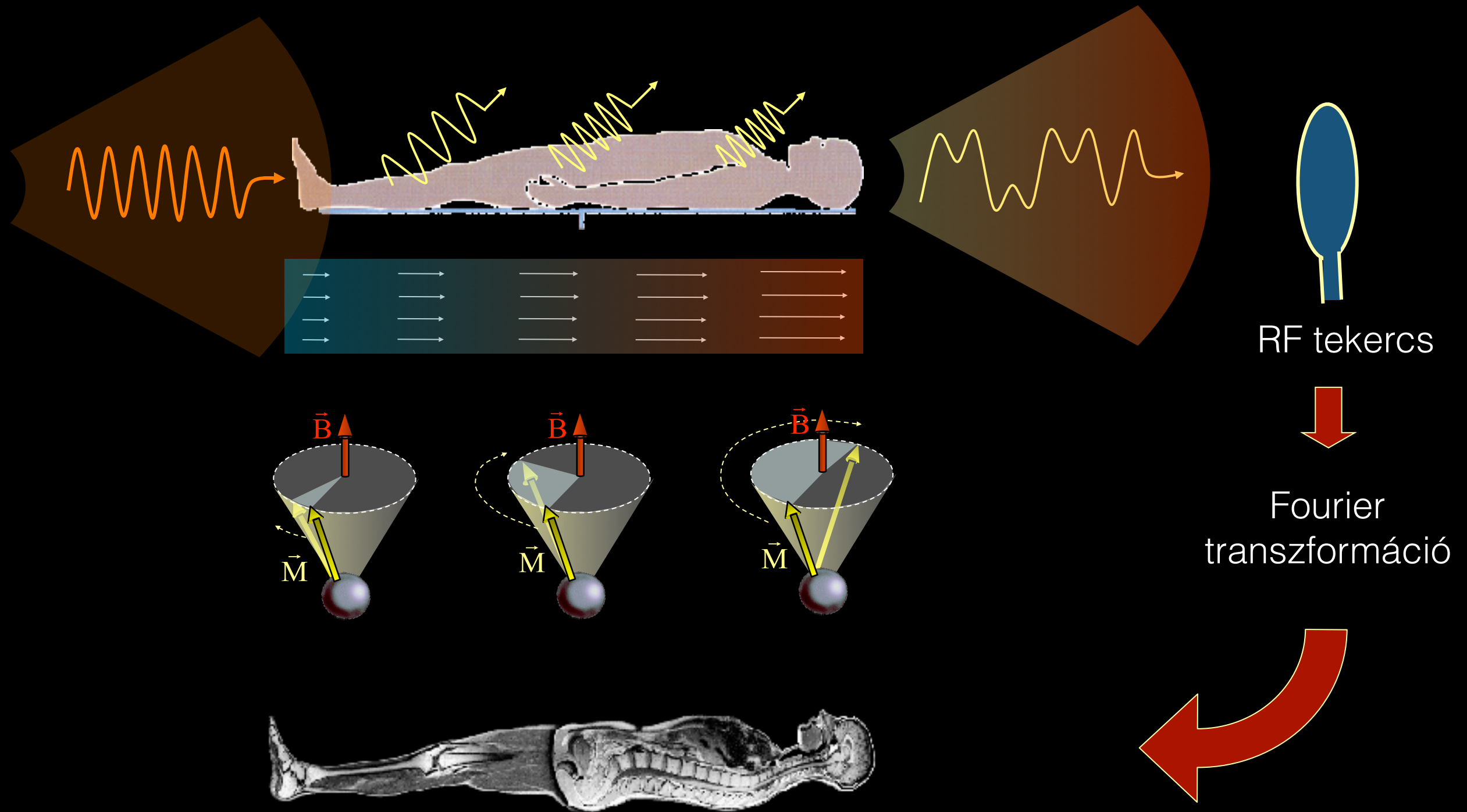
T2 relaxációs idő:
elemi mágnesek (protonok)
közötti kölcsönhatásra utal

MRI: az emberi test makroszkópikus mágnesezettségét hozza létre



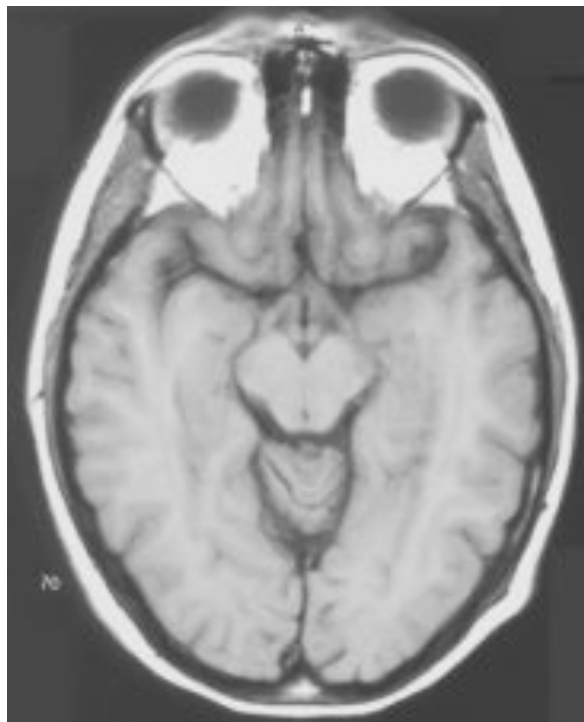
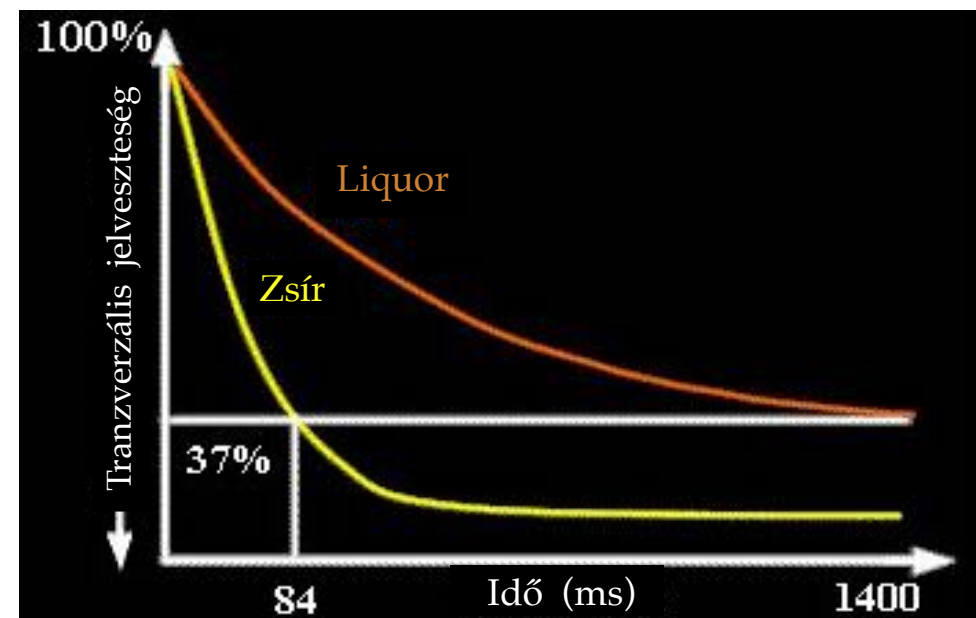
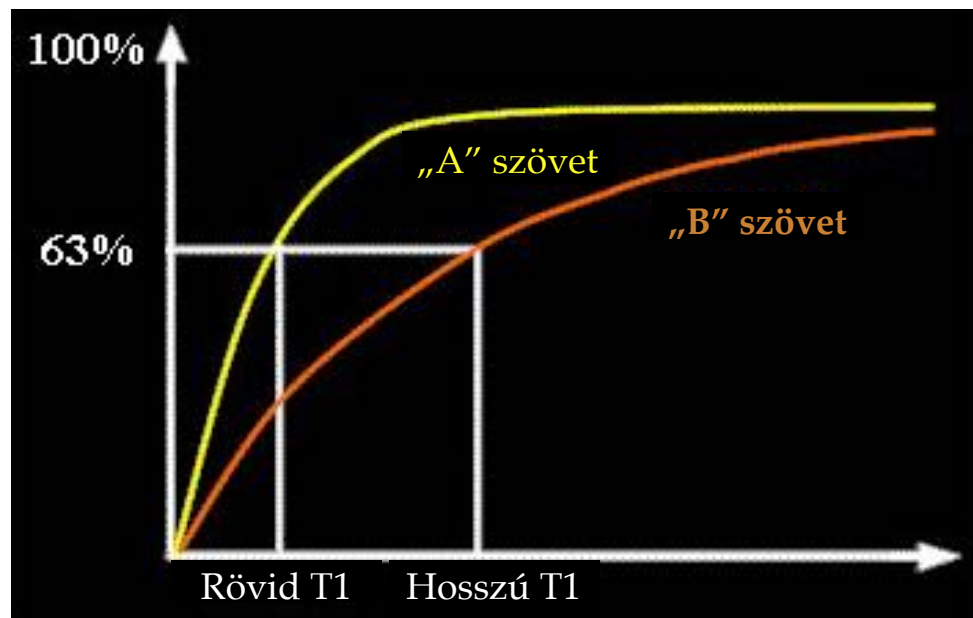
MRI: térbeli kódolás és képrekonstrukció

a precesszió térfüggő frekvenciaváltozásán alapul

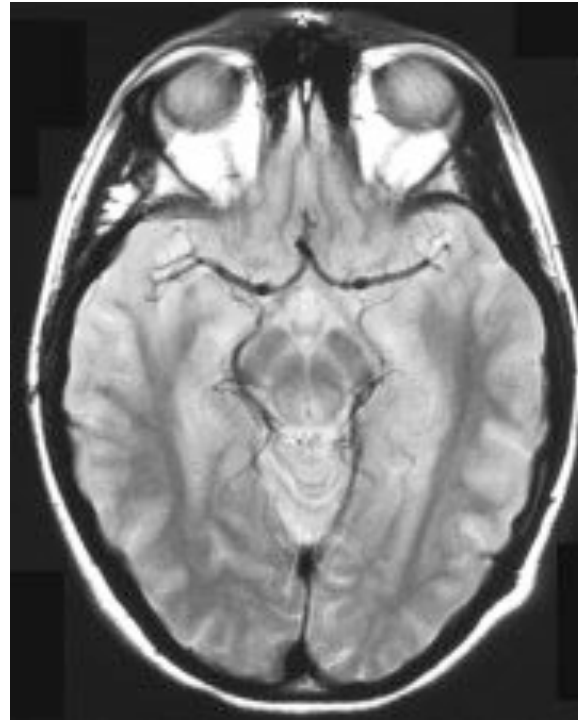


MRI képkalkotás

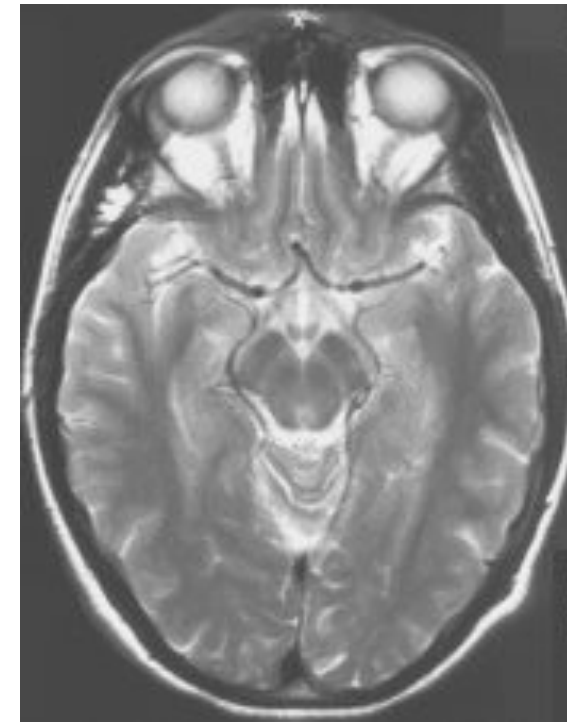
Színkontraszt aspinsűrűség és relaxációs idők alapján



T1-súlyozás



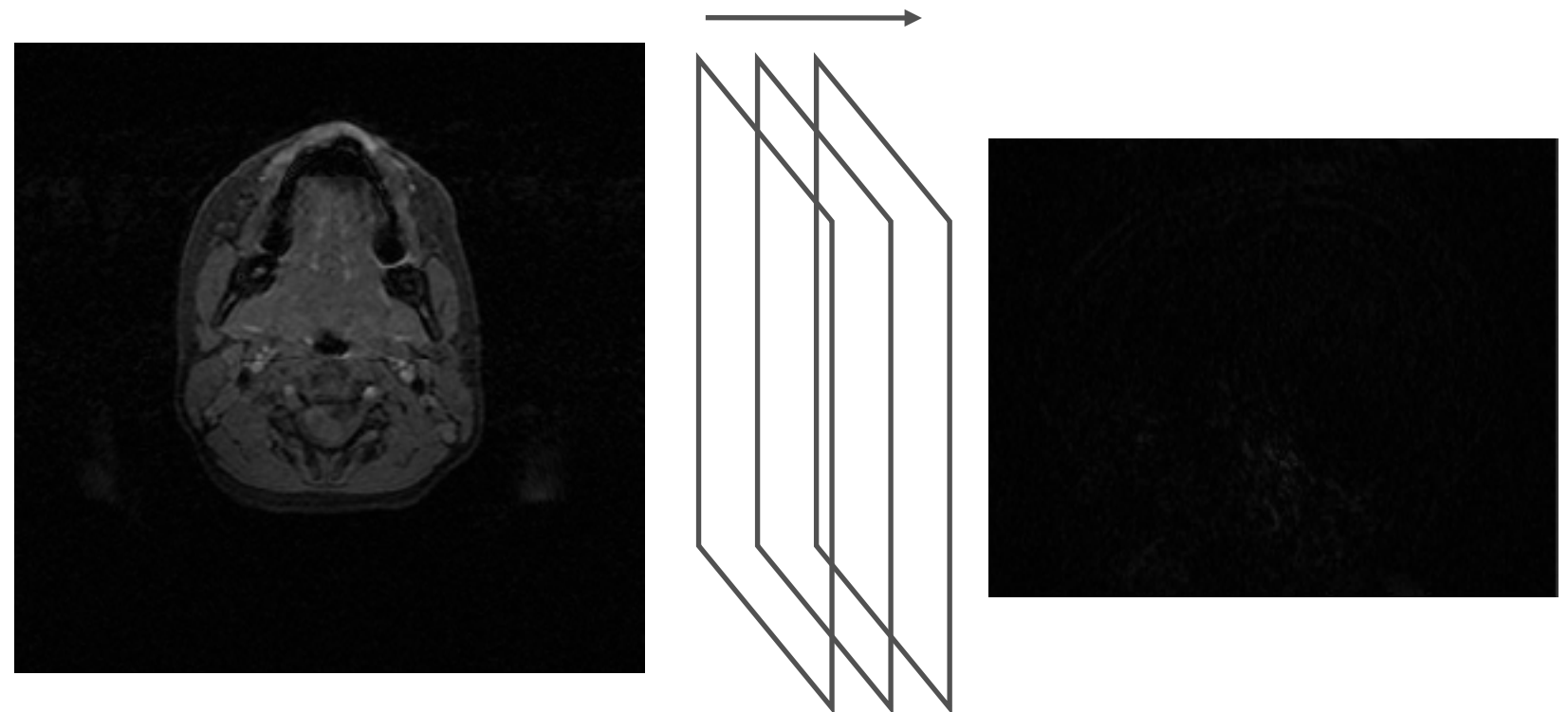
protonsűrűség-súlyozás



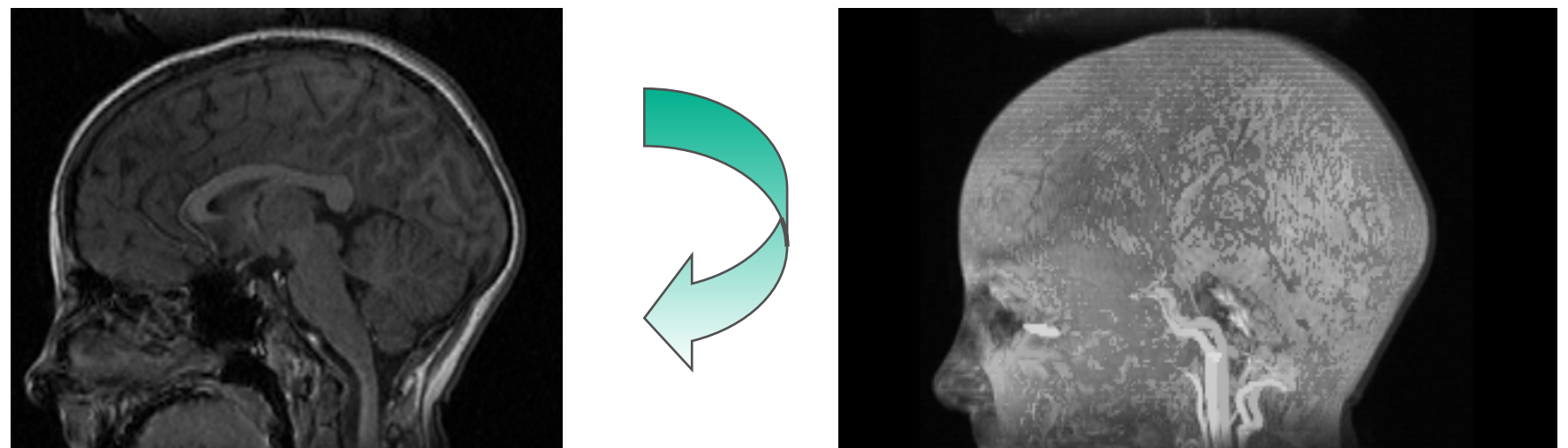
T2-súlyozás

MRI: 3D információ

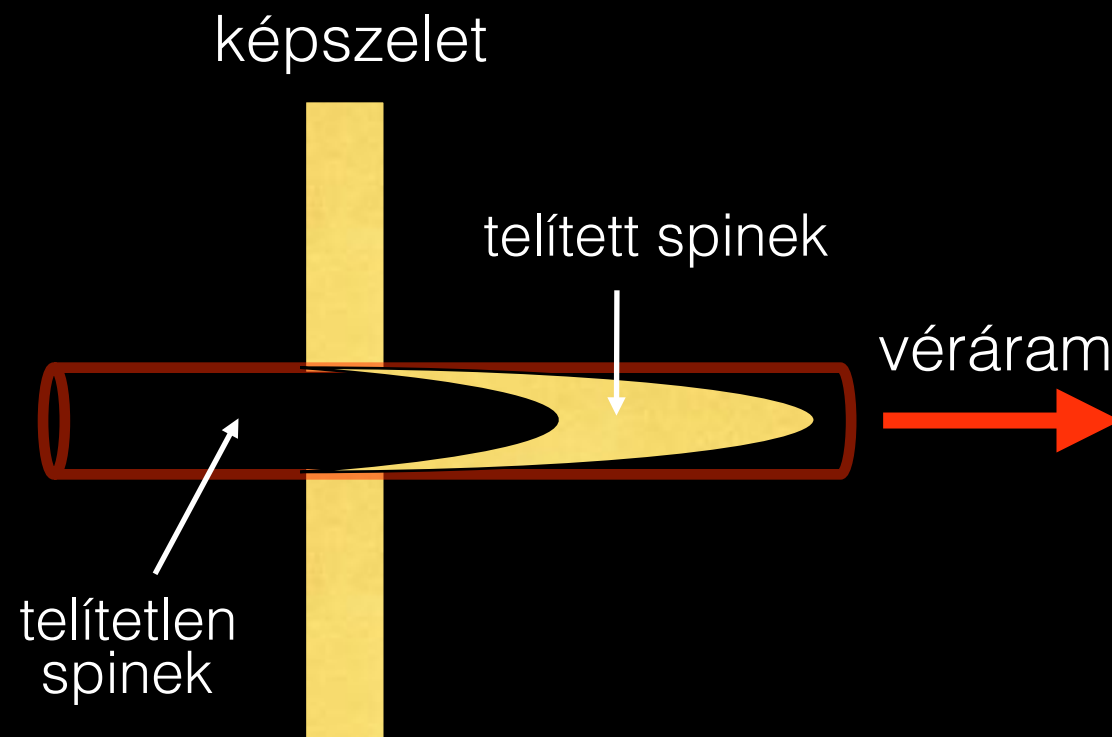
Újraszeletelés
merőleges síkban



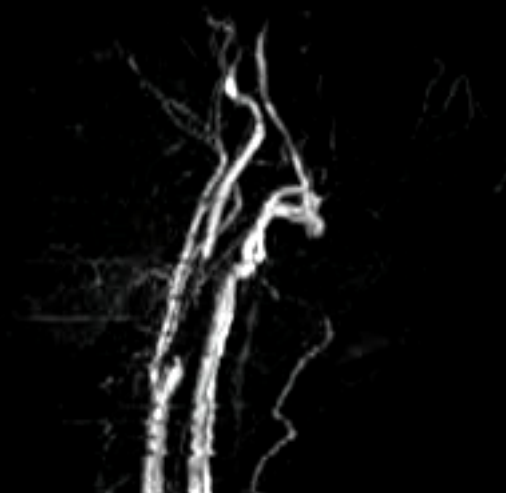
Térbeli projekció
(„volume rendering”)



Az MRI több mint anatómiai képalkotás: Non-invazív angiográfia



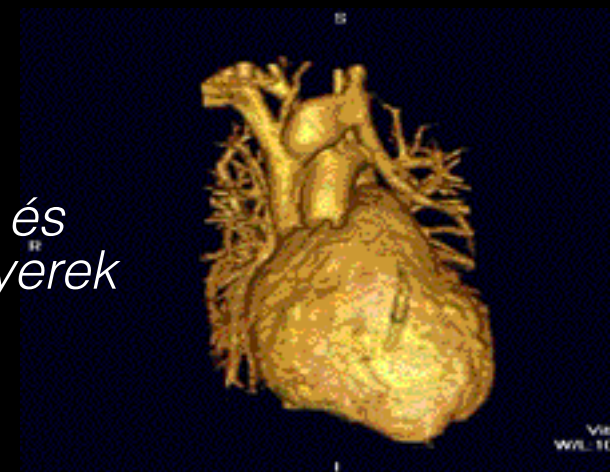
*Arteria
carotis*



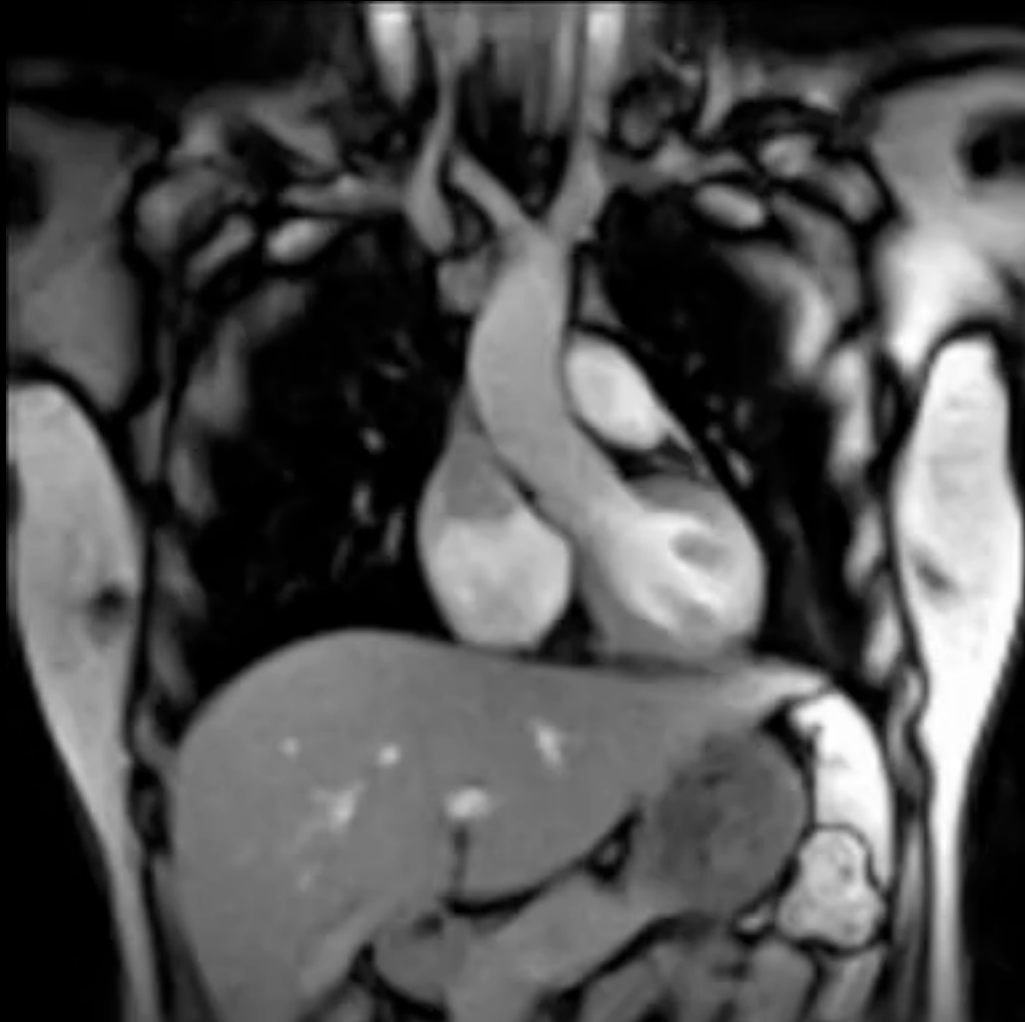
*Circulus
arteriosus
Willisii*



*Szív és
nagyerek*



MRI mozgókép (valós idő) Nagy időfelbontású felvételek alapján



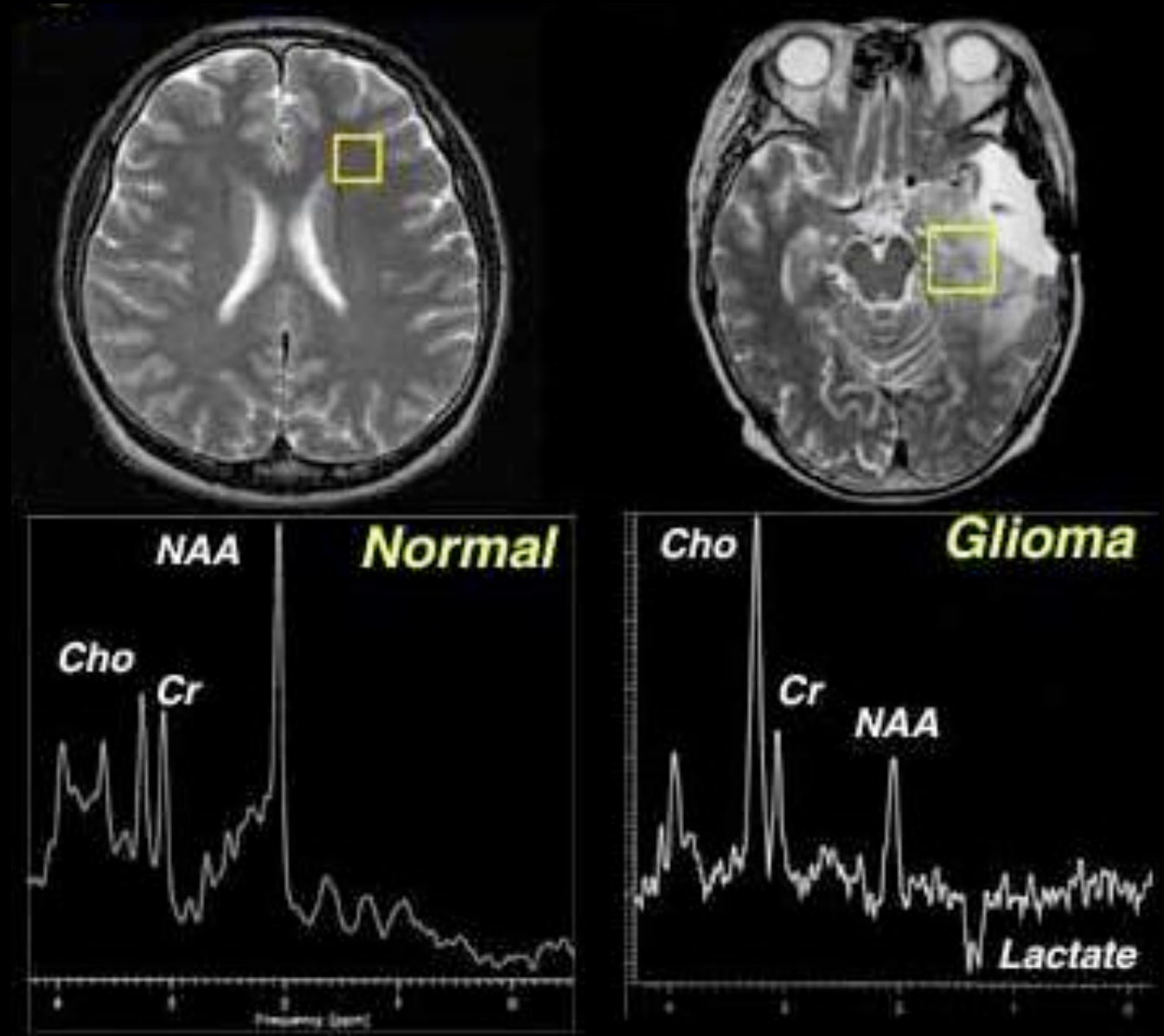
Mellkas - frontális képsorozat



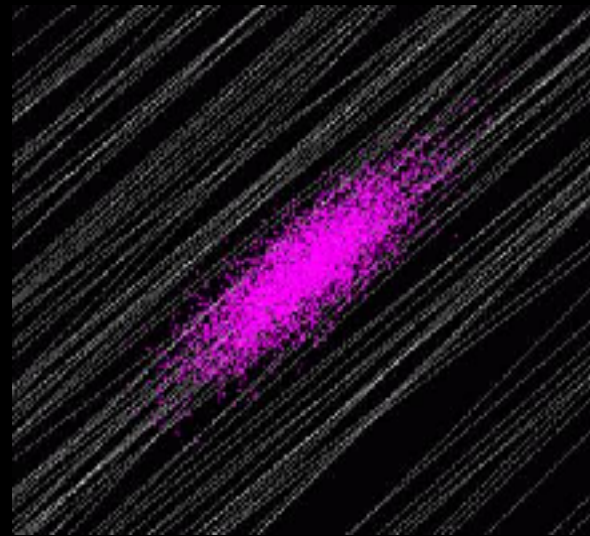
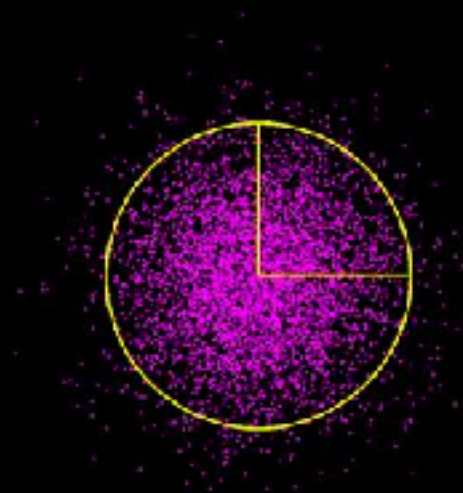
Aortabillentyű nyitódása - záródása

MR Spektroszkópia

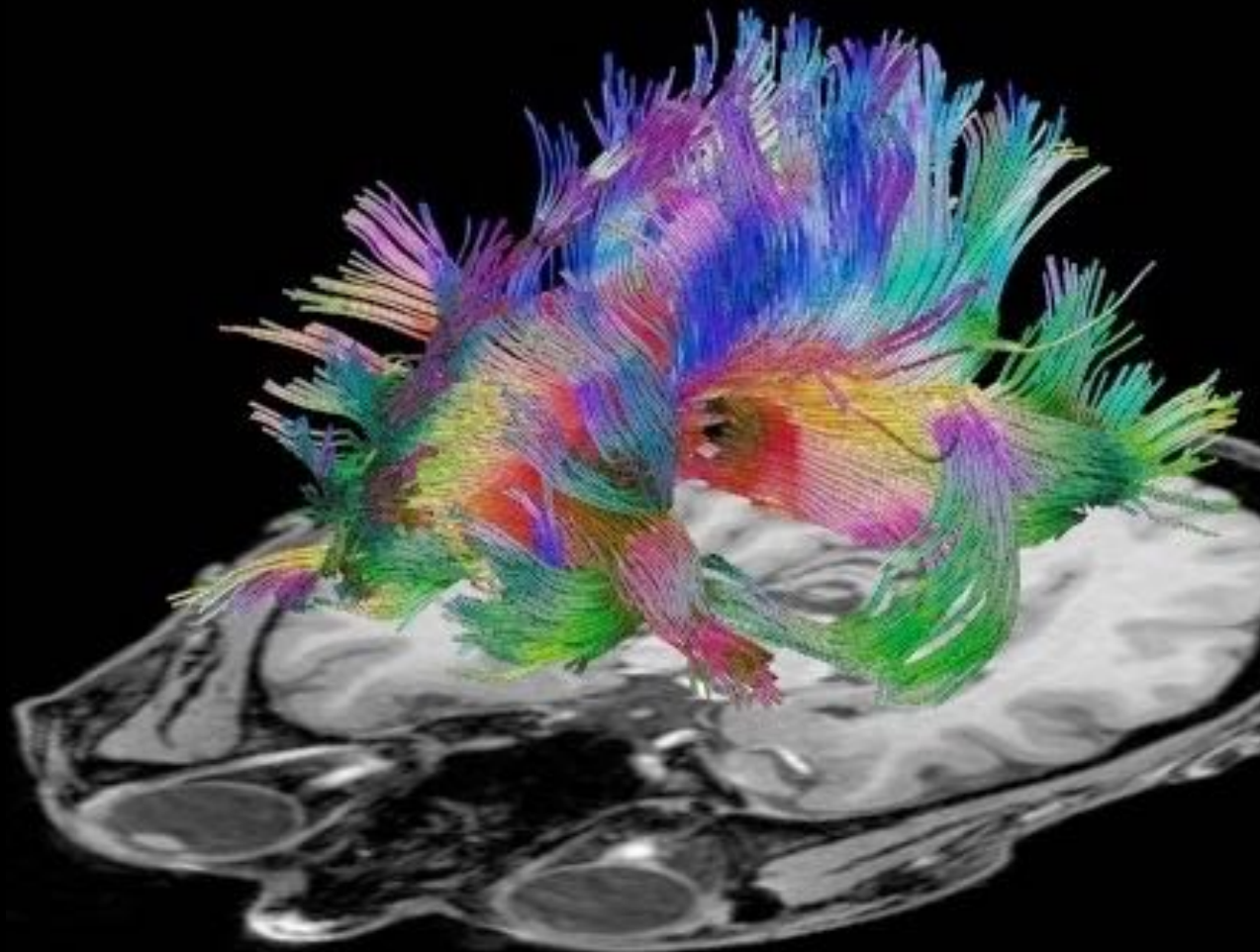
- Kémiai eltolódás (chemical shift)
- Metabolitok azonosítása
- Tumordiagnosztika



Diffúziós képalkotás



Anizotróp vízdiffúzió:
kontrasztkpződés

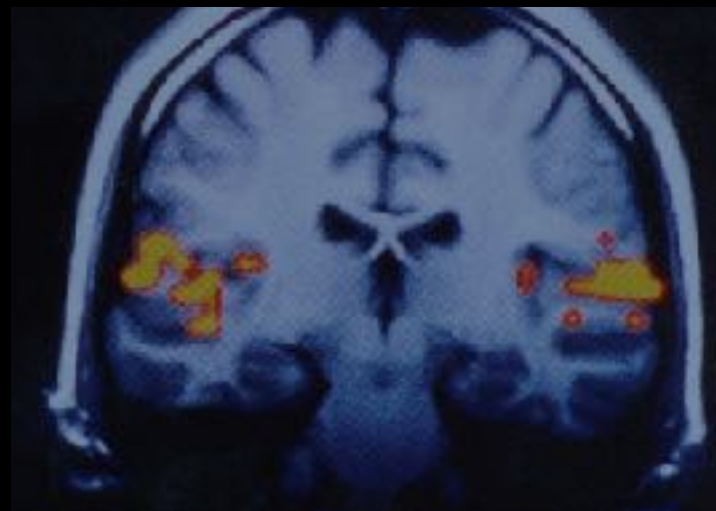
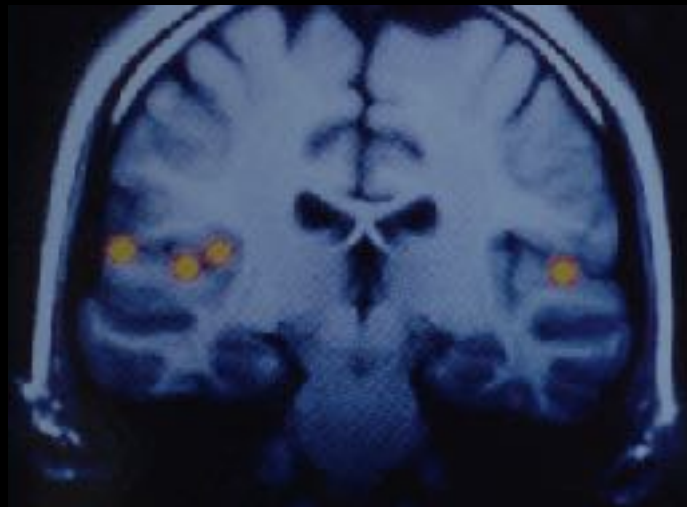


Idegpályák vizsgálata:
traktográfia

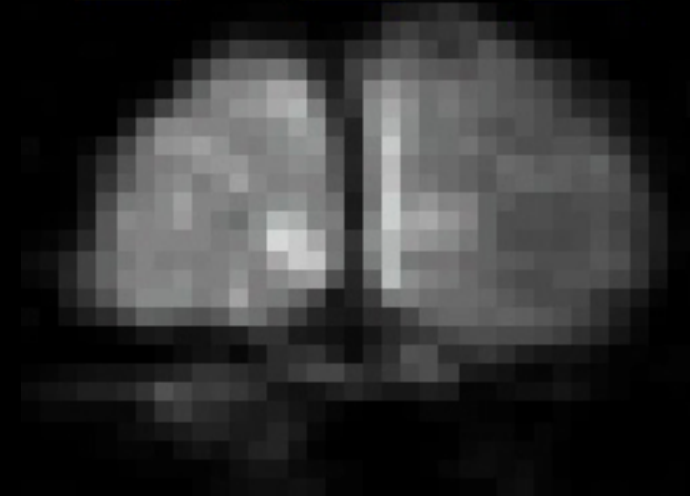
Corpus callosum

Funkcionális MRI (fMRI)

Élettani folyamattal szinkron felvett Nagy időfelbontású képsorozat



Aktiváció az acusticus
cortexben



Villogó fény hatása a
látókéregre

Az MRI szuperponálható más képalkotó modalitásokra (pl. PET)



PET aktivitás: szemmozgítás során
Térbeli rekonstrukció