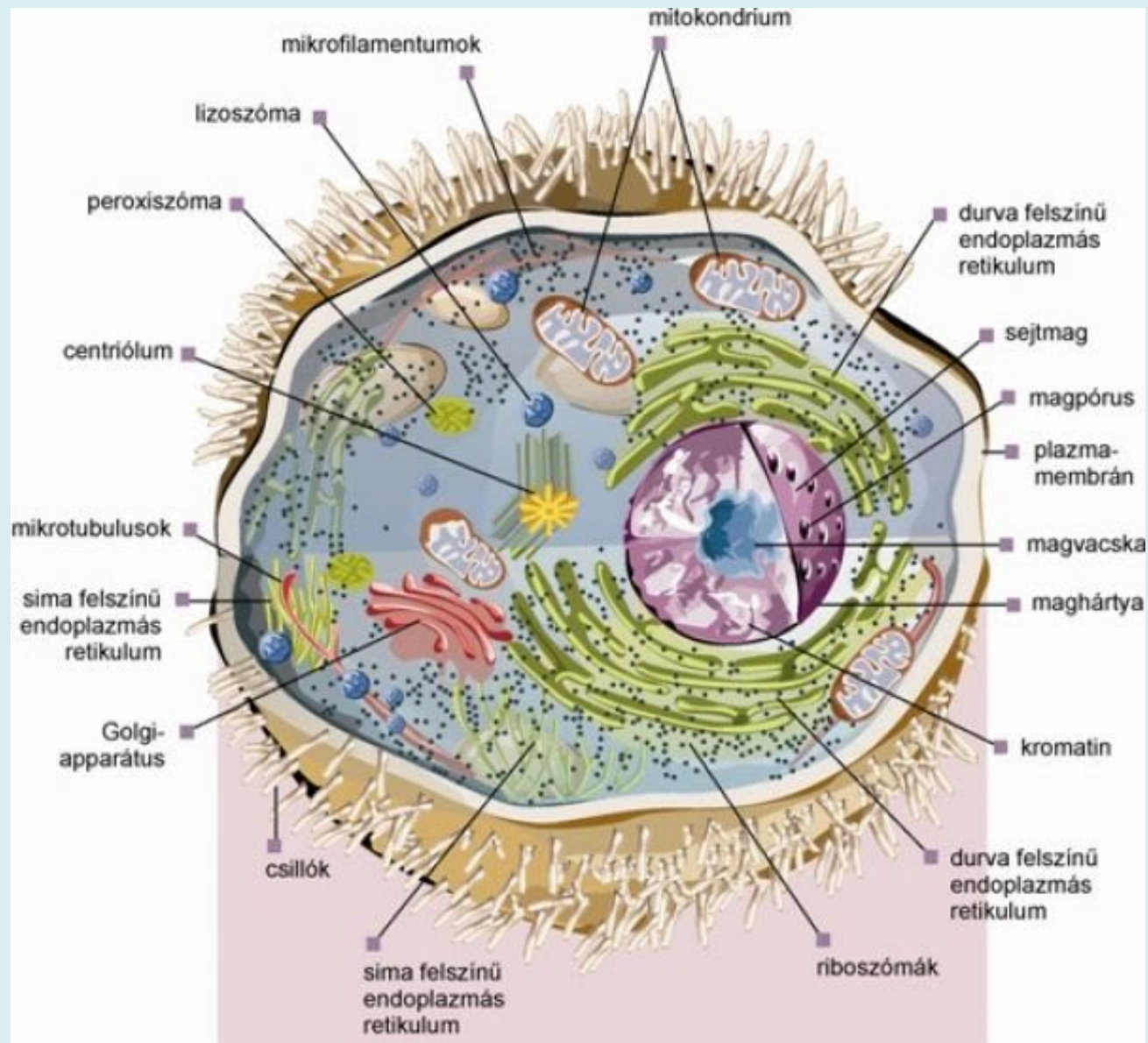


# Makromolekulák a biofizika szemszögéből

2022-04-18  
Liliom Károly

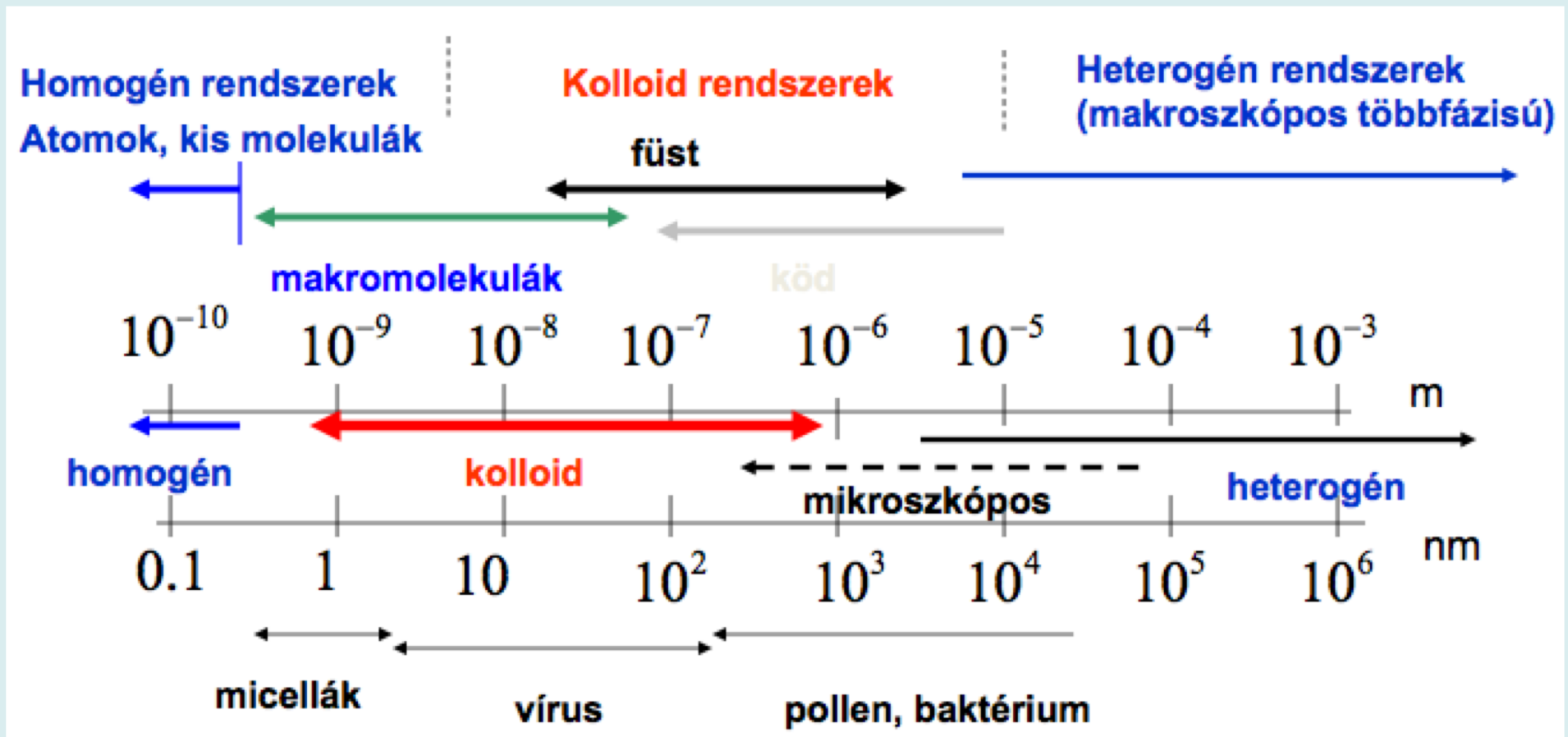




# Kolloid rendszerek

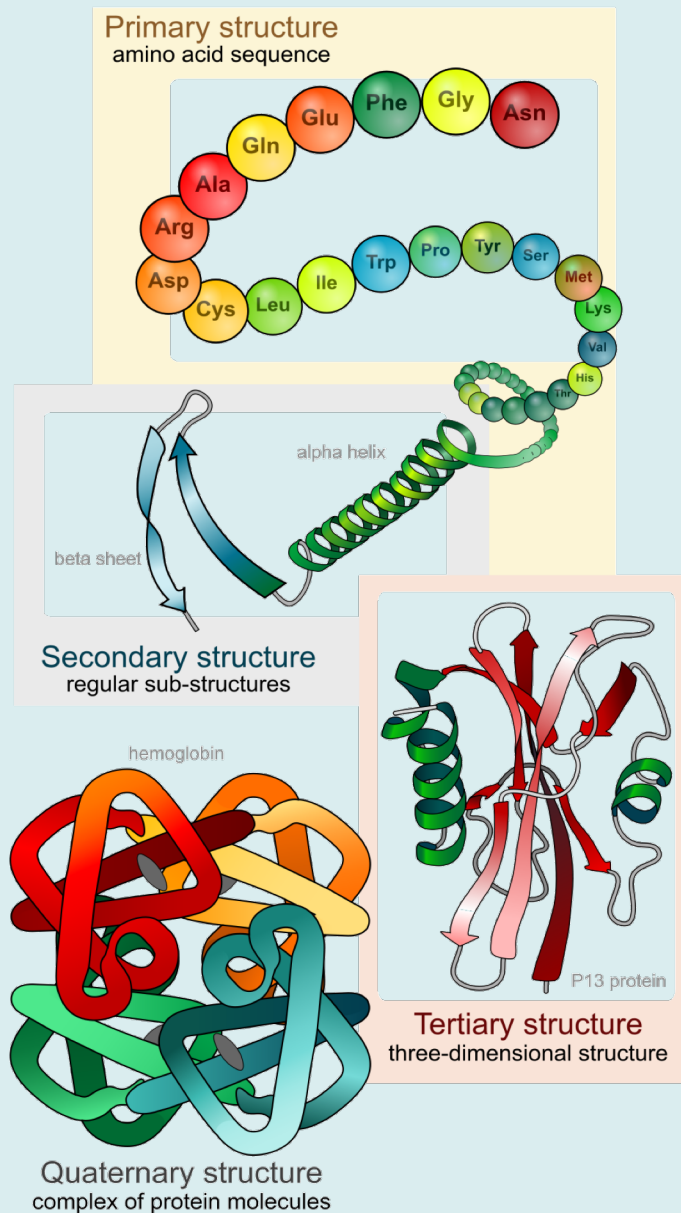
- két komponensből álló keverék két szélső állapotot vehet fel:
  - az egyik komponens egyenletesen eloszlik a másikban (homogén rendszer, valódi oldat)
  - a komponensek szétválnak (heterogén rendszer, fázisszeparáció)
- ha az egyik komponens olyan asszociátumokat képez a másikban, amelyeknek valódi felülete van, akkor kolloid rendszerről beszélünk

# A sejtek kolloid rendszerek



Bármilyen anyag kolloid állapotba hozható. A kolloid állapot egy mérettől függő állapot, nincs kémiai összetételhez vagy anyagi tulajdonsághoz kötve.

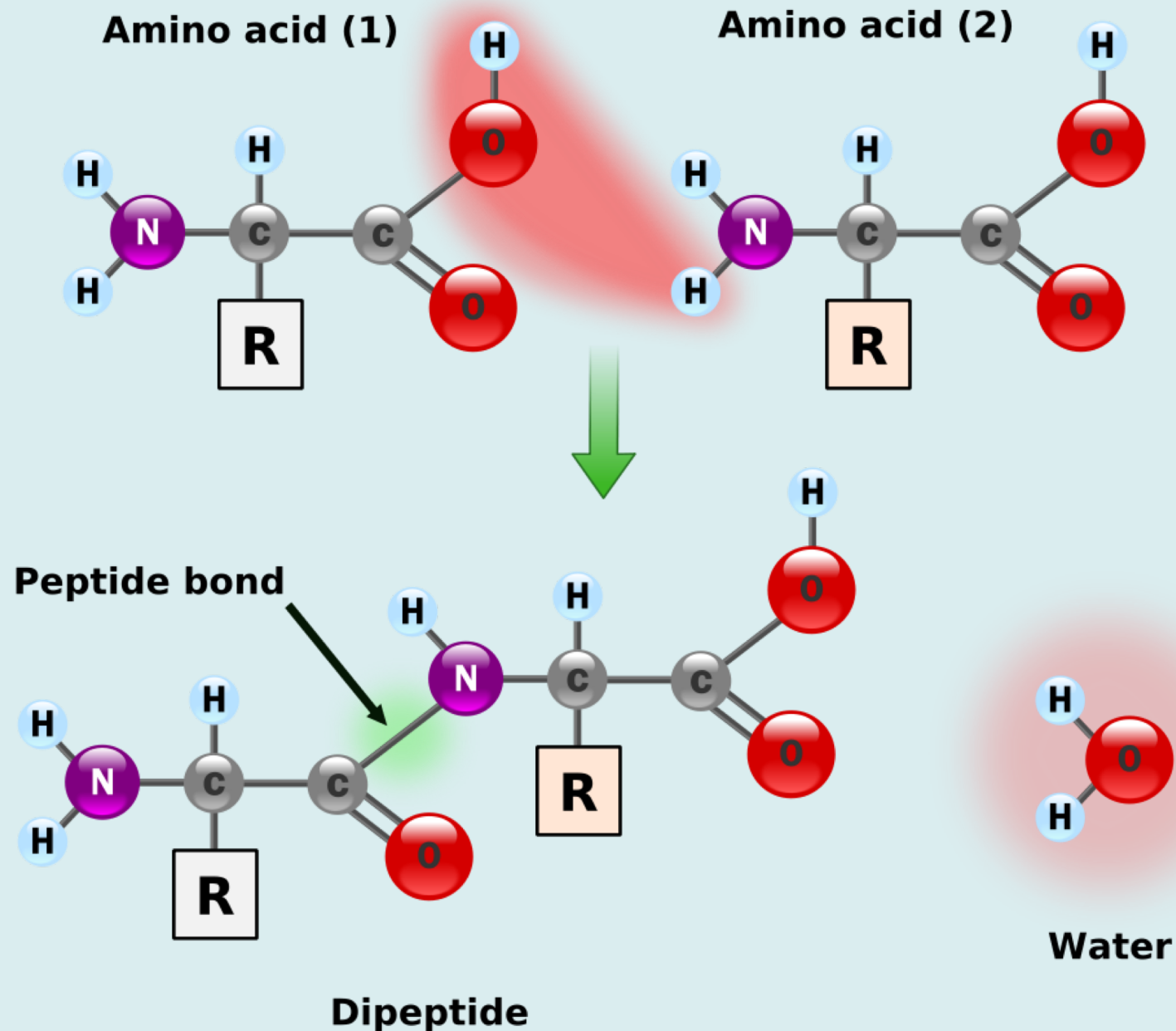
# Makromolekulás kolloidok - fehérjék



A fehérjék aminosavakból felépülő polipeptidek:

- elsődleges szerkezet (aminosavsorrend)
- másodlagos szerkezet ( $\alpha$ -hélix és  $\beta$ -lemez)
- harmadlagos szerkezet (konformáció)
- negyedleges szerkezet (oligomerizáció)

# Aminosavak → peptidkötés

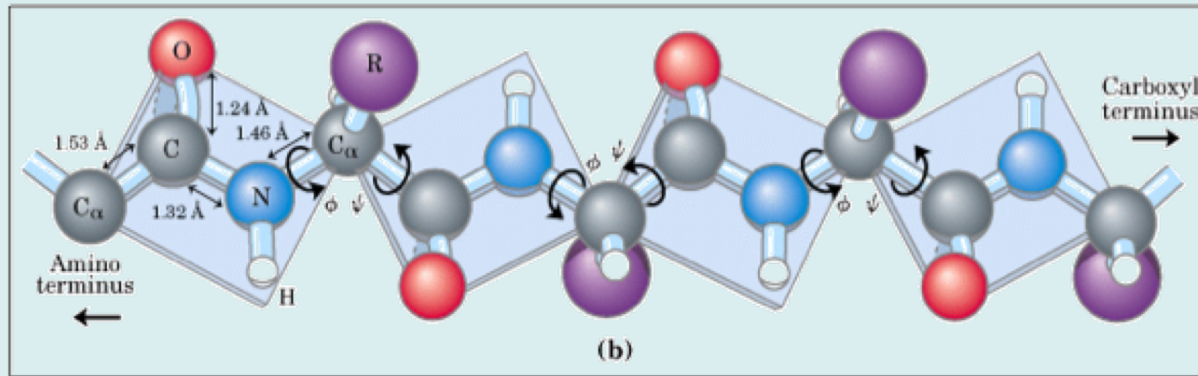


# Peptidkötések konformációja

Torziós (diéderes szögek):  $(+180^\circ - -180^\circ)$

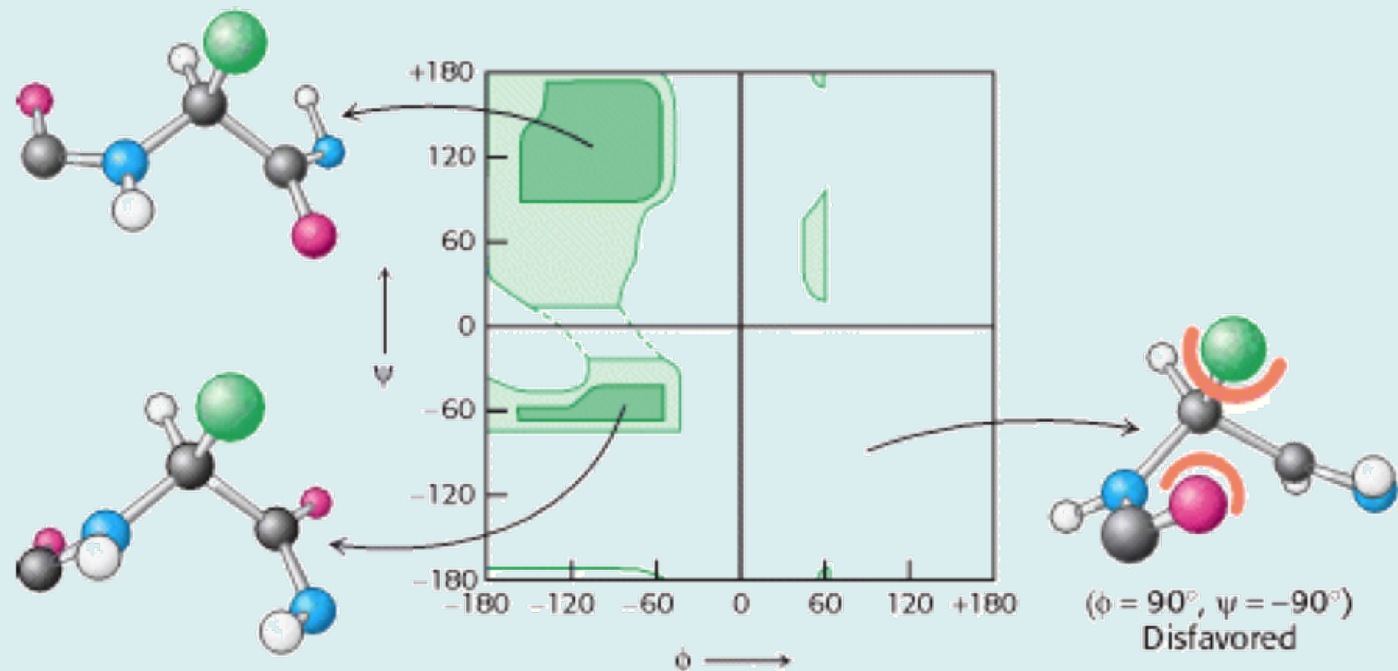
- N-C<sub>α</sub>:  $\Phi$ -szög
- C<sub>α</sub>-C:  $\Psi$ -szög

$$\Phi = 180^\circ, \Psi = 180^\circ$$



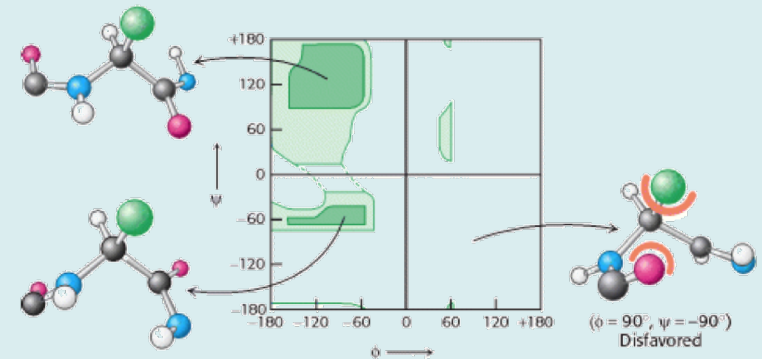
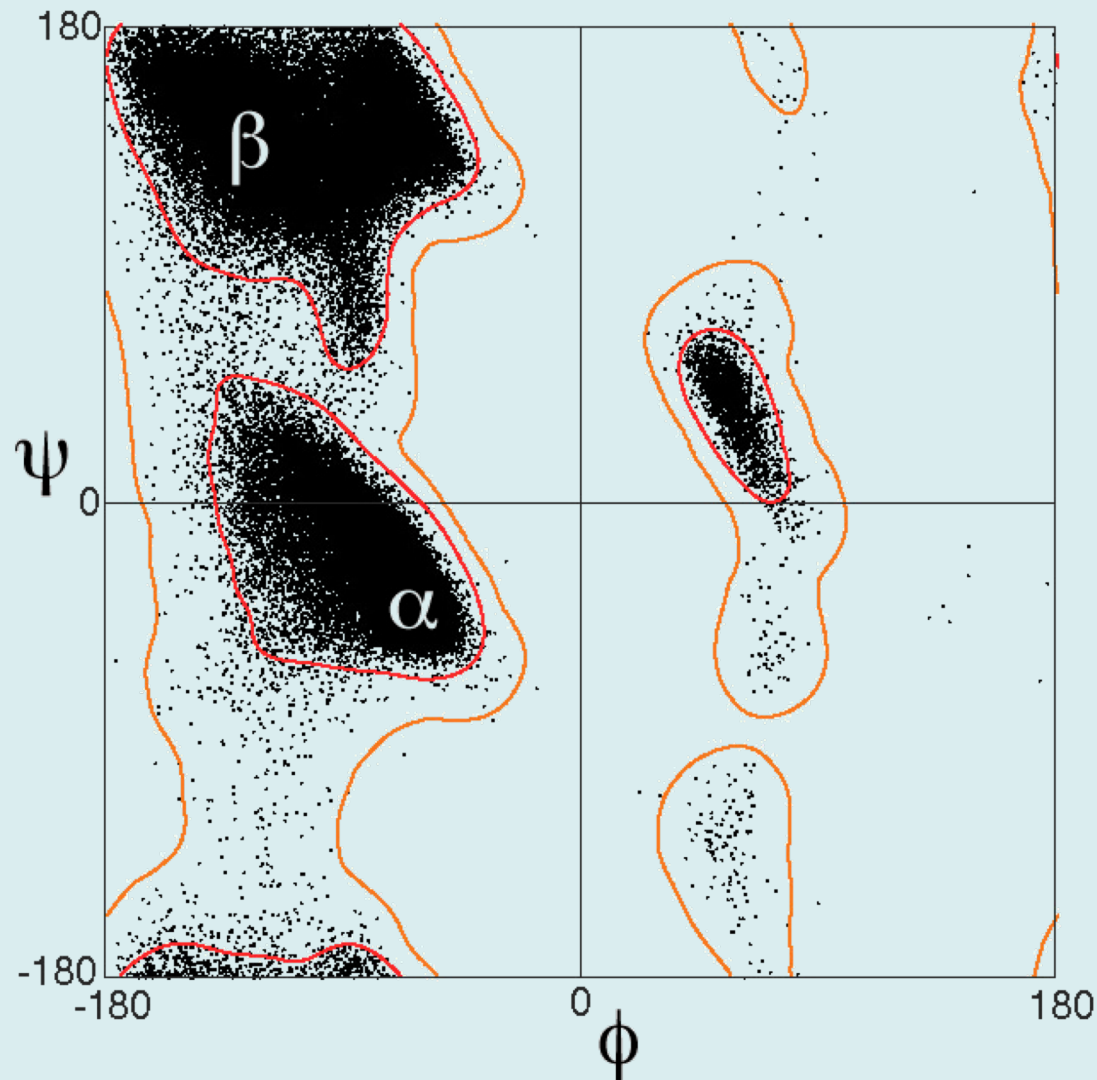
A peptidkötés merev és sík, a C<sub>α</sub>-atomok körül szabad a forgás, de az oldalláncok nem ütközhetnek!

Ramachandran diagram:  
optimális és megengedett konformációs tartományok.  
Eredetileg van der Waals sugarú merev gömbök...



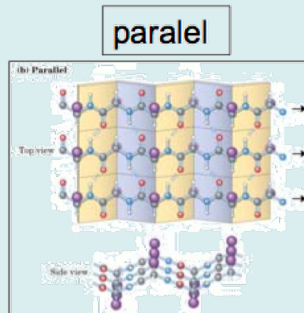
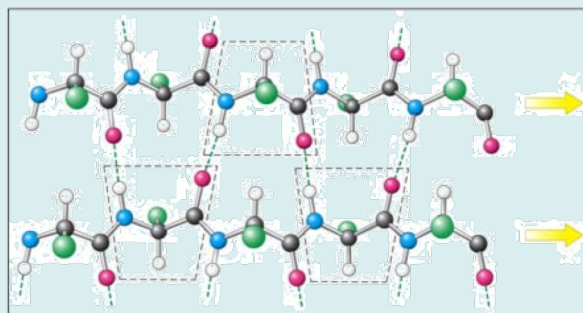
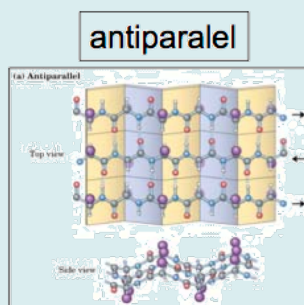
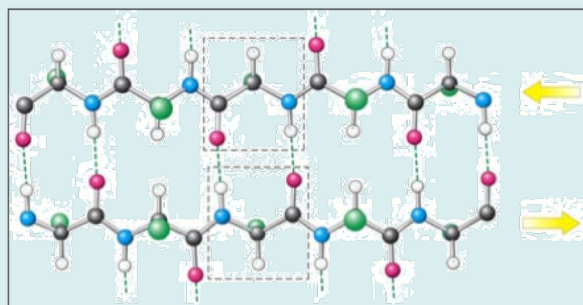
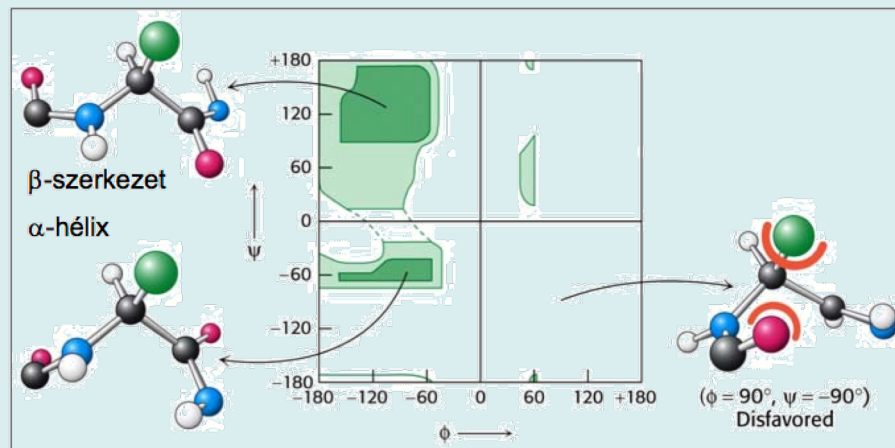


# Kísérletileg meghatározott fehérjeszerkezetekben talált torziós szögek



# Peptidkötések konformációja

Ramachandran diagram  
(1968; megengedett  $\Phi$ - és  $\psi$ -szögek)

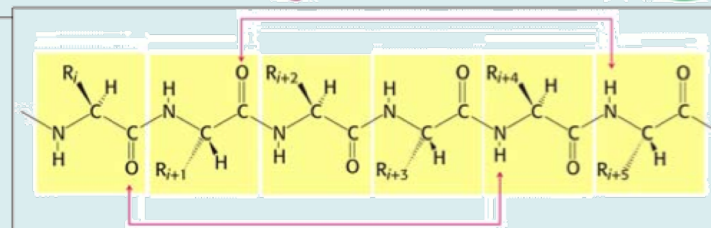
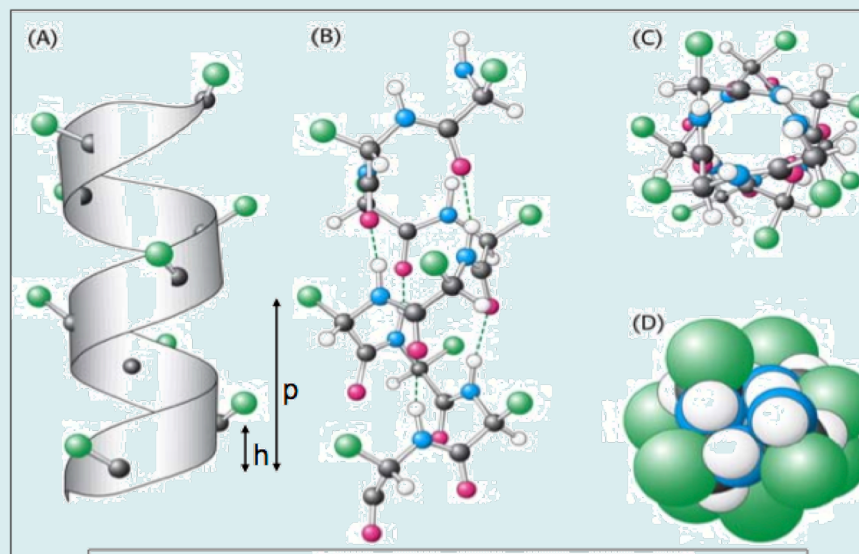
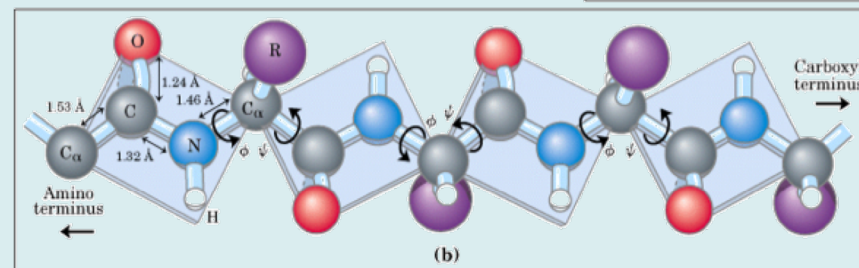


Torziós (diéderes szögek): (+180° – -180°)

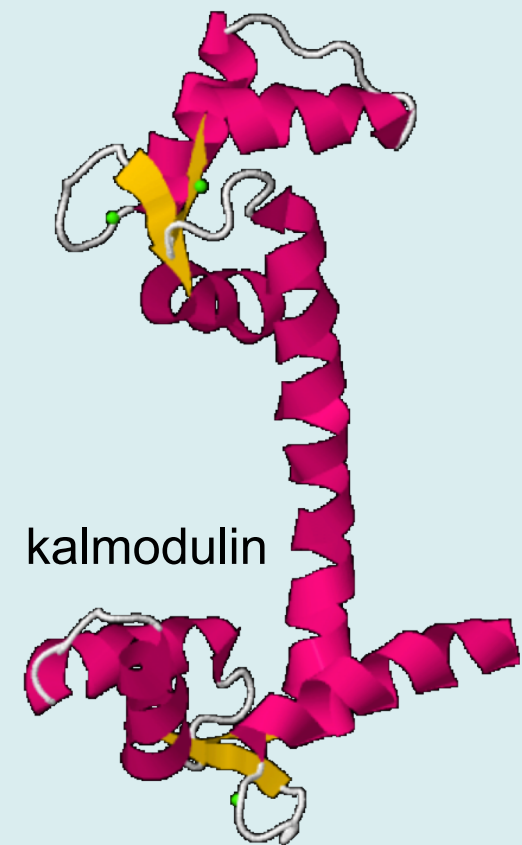
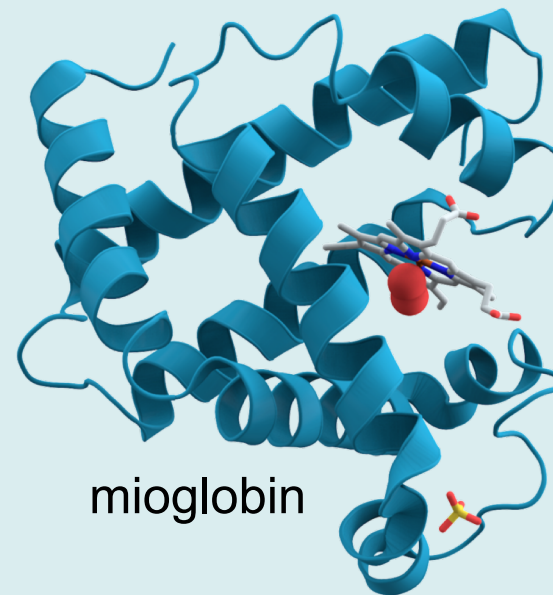
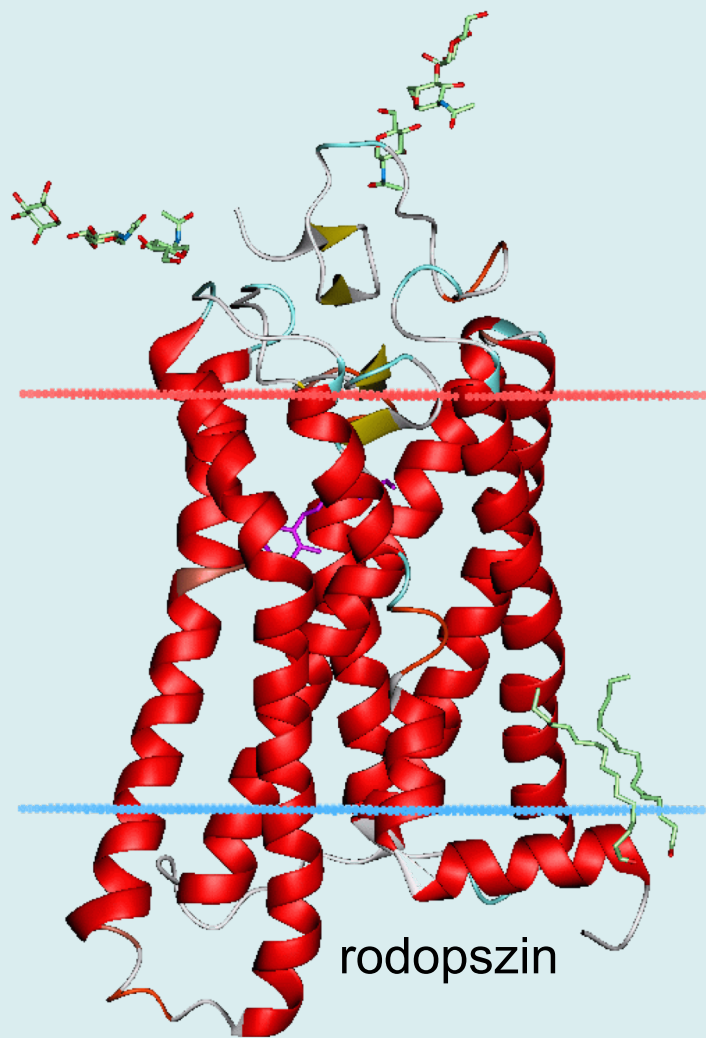
– N-C<sub>α</sub>:  $\Phi$ -szög

– C<sub>α</sub>-C:  $\psi$ -szög

$\Phi = 180^\circ, \Psi = 180^\circ$

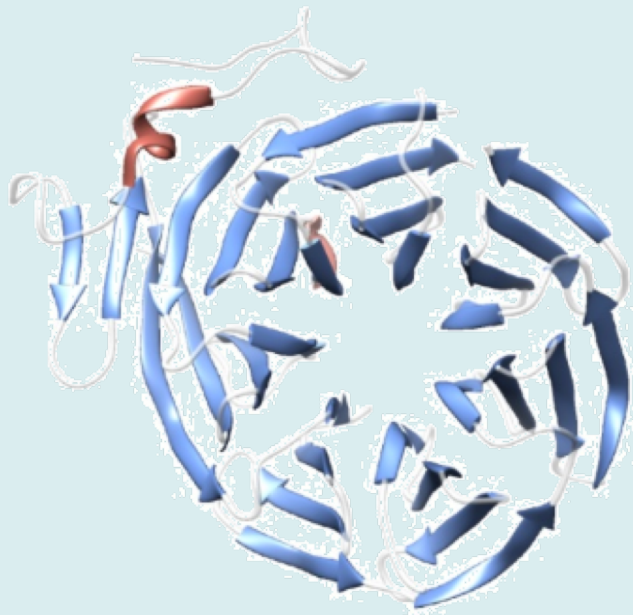


# elsődlegesen $\alpha$ -szerkezetek

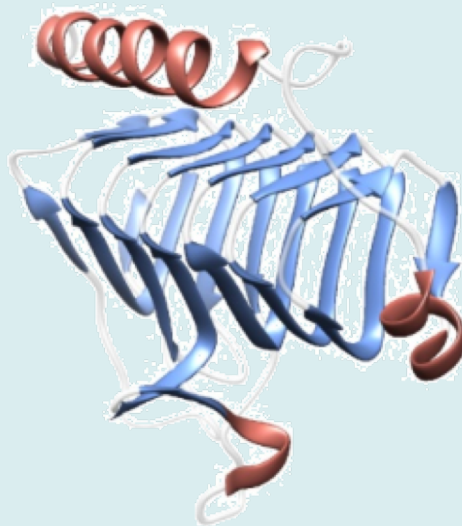




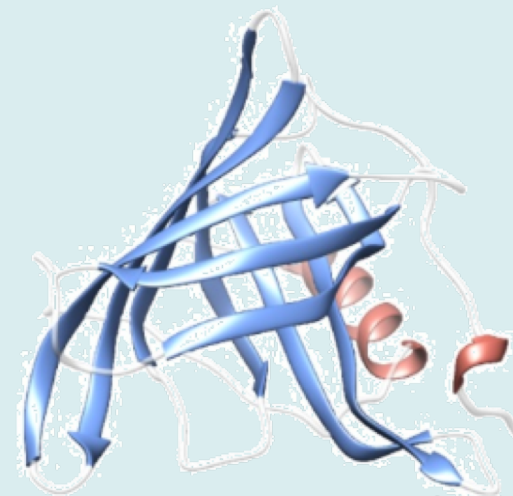
# elsődlegesen $\beta$ -szerkezetek



TUP1 fehérje (1ERJ)



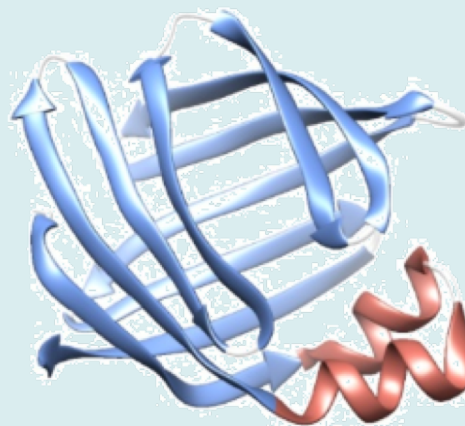
$\gamma$ -szénsav-anhidráz (1QRE)



Retinol kötő fehérje (1AQB)



$\beta_2$ -mikroglobulin (2YXF)



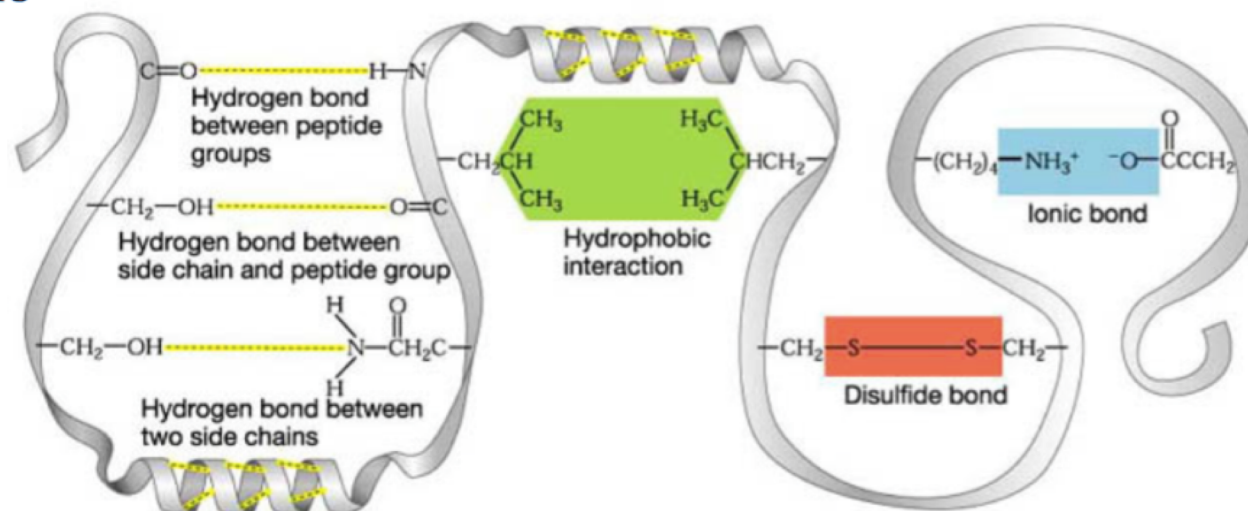
Zsírsavkötő fehérje (1IFB)

# A fehérjeszerkezetet stabilizáló kölcsönhatások

A fehérjék téralkatát stabilizáló

## 5-fajta kötés:

- peptidkötés,
- hidrogén-híd (kötés),
- diszulfid kötés,
- ionos kötések,
- hidrofób erők (kötés)



Kovalens kötés	Hidrogén-híd	Ionos-kötés	Van der Waals	Hidrofób erők
~100 kcal/mol	~3 kcal/mol	~ 5 kcal/mol	~1 kcal/mol	~3 kcal/mol

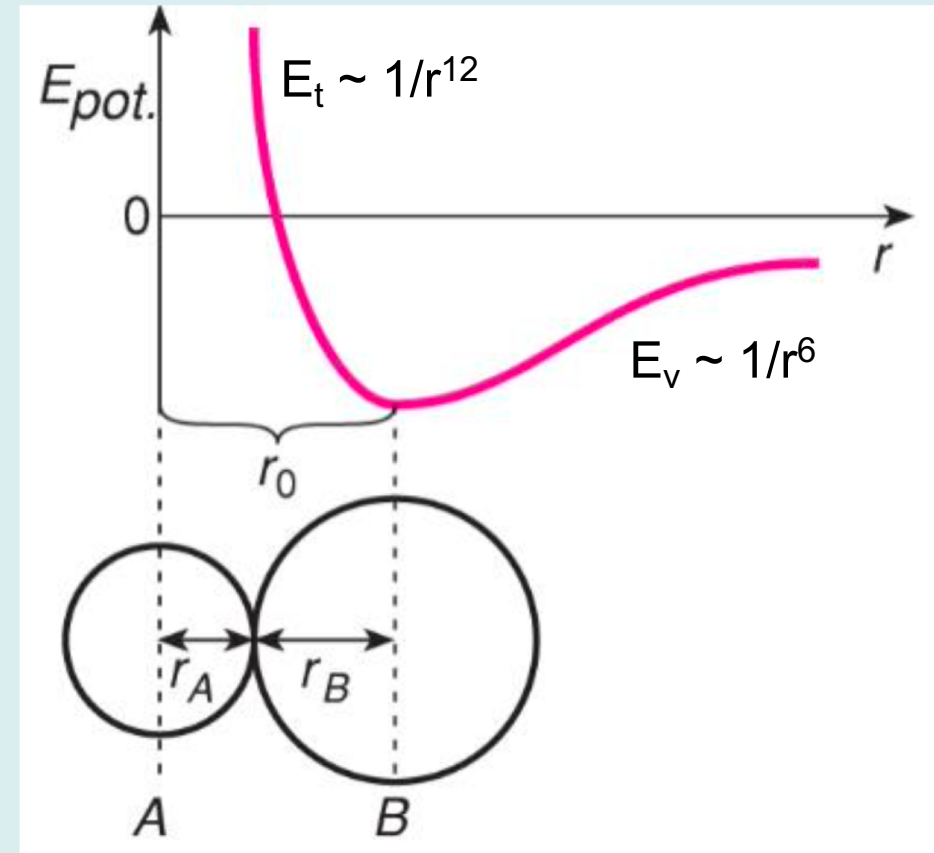
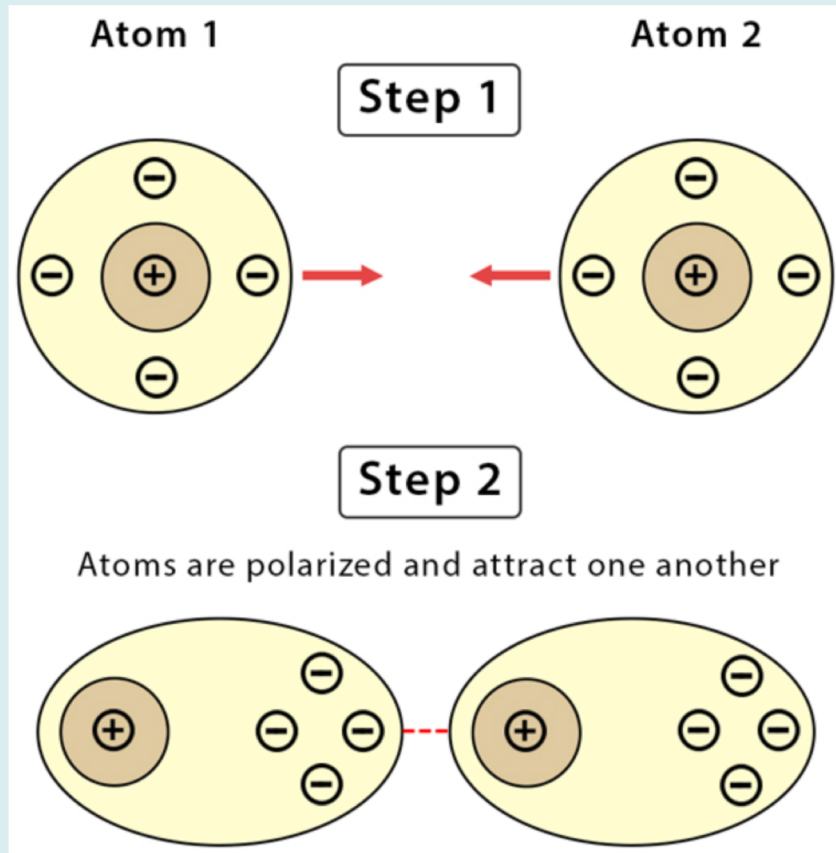
A fehérjék másodlagos szerkezeti elemeit, a szerkezeti motívumokat összetartó és egymáshoz kapcsoló kölcsönhatások kooperatív módon stabilizálják a szerkezetet!



# Kémiai kötések osztályozása

Rendű	Kötéstípusok	Kölcsönhatások	Kölcsönhatási energia (kJ/mol)	
Első-	Ionos	Kation-anion	400-4000	Erős
	Kovalens	Elektronpárok	150-1100	Erős
	Fémes	Kationok és a vegyértékhéj elektronok	75-1000	Erős
Másod-	Ion-dipól	Töltés és a permanens dipól	40-600	Erős
	Hidrogénkötés	Poláris hidrogén és a nemkötő elektronpár	10-40	Közepes
	Dipól-dipól	Állandó dipólusok közt	5-25	Közepes
	Ion-indukált dipól	Ion és az általa keltett dipólus közt	3-15	Gyenge
	Dipól-indukált dipól	Állandó dipólus és az általa keltett dipólus közt	2-10	Gyenge
	Indukált dipól-indukált dipól	Pillanatnyilag kialakult dipólusok közt	0,05-40	Gyenge

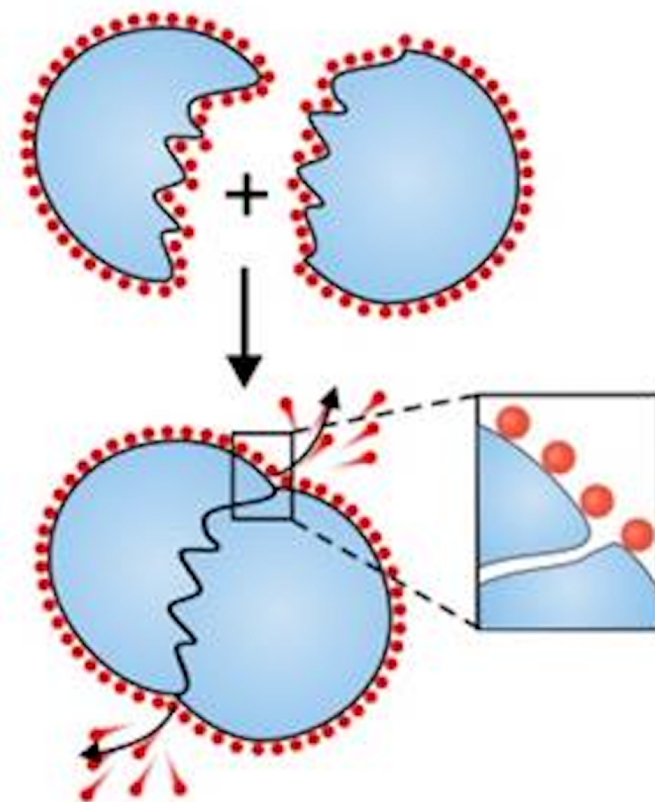
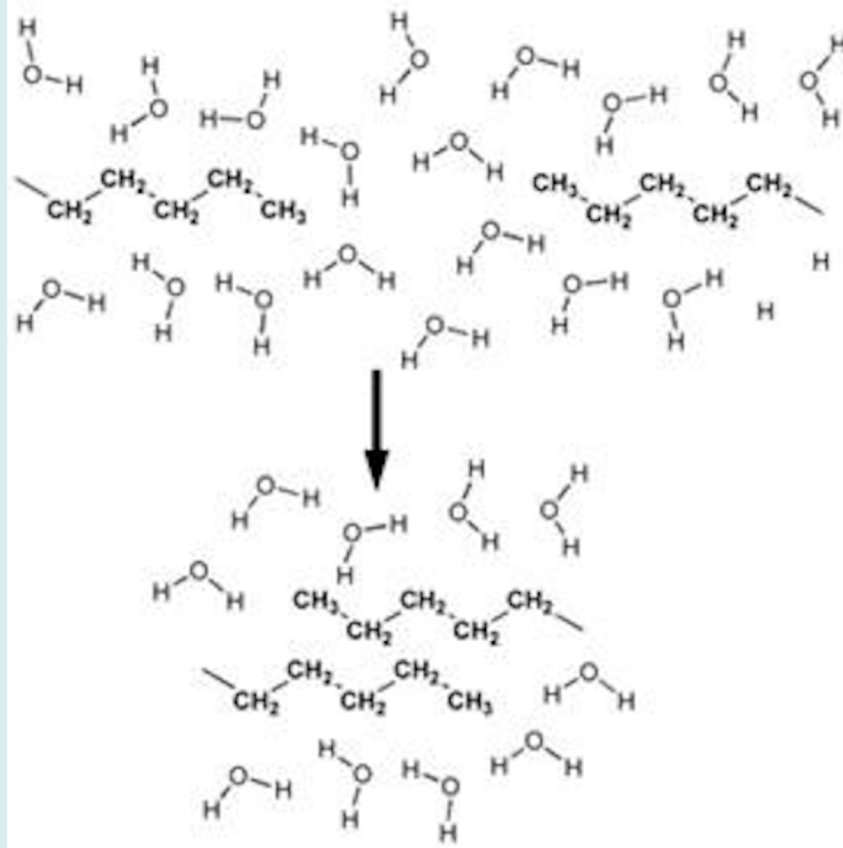
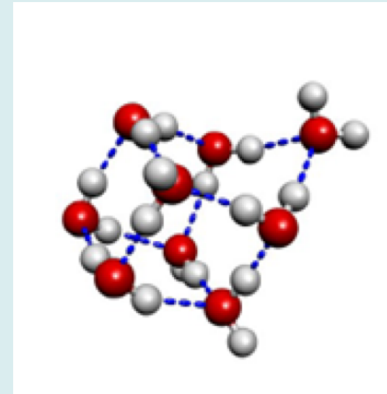
# Van der Waals kölcsönhatás



**Lennard-Jones potenciál:**

$$E = A/r^{12} - B/r^6$$

# Hidrofób kölcsönhatás

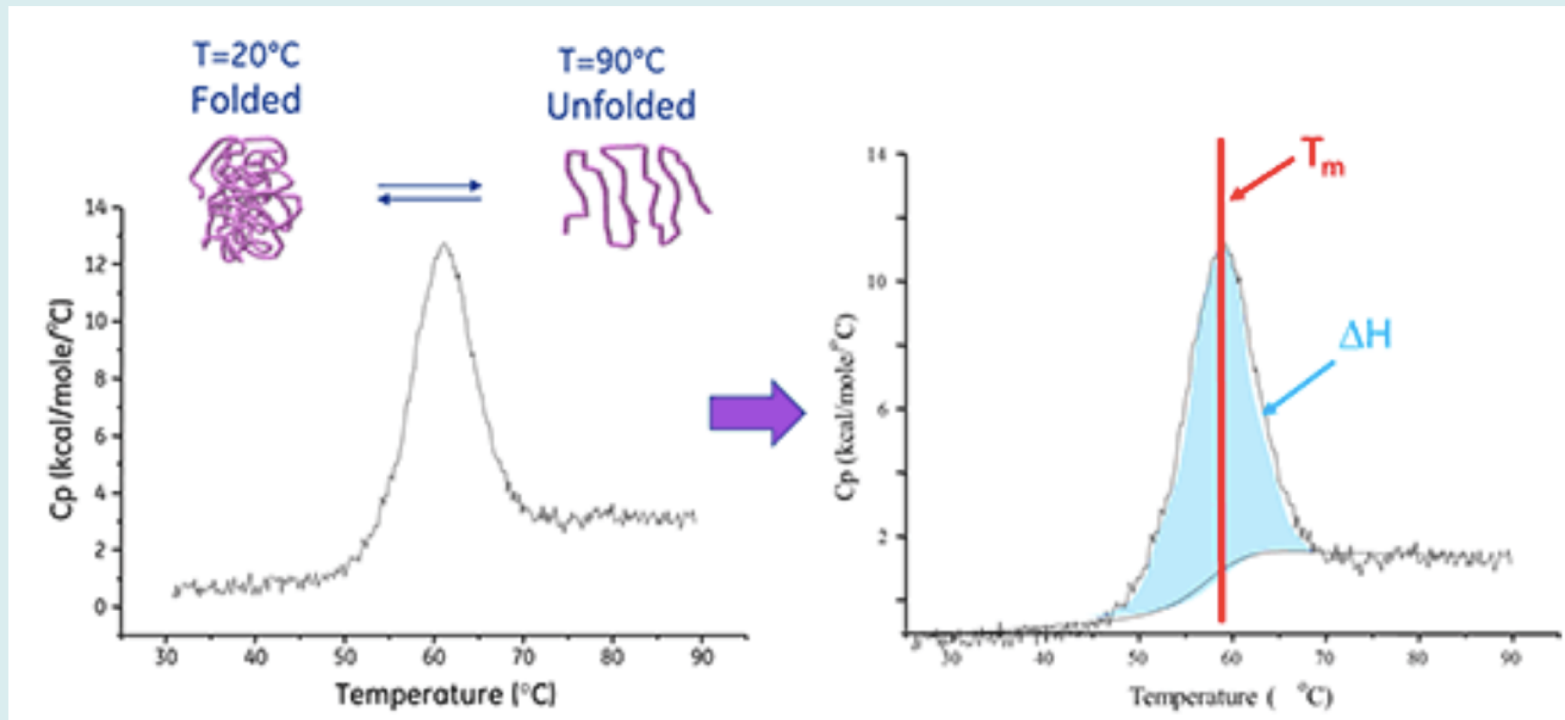


A víz kizáródik a komplementer  
kötőfelzínek közül

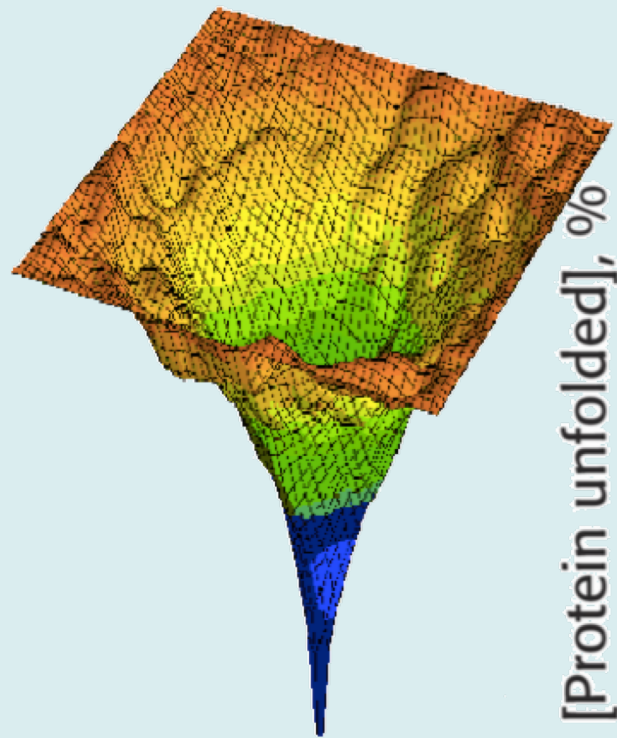
A fehérjék másodlagos szerkezeti elemeit összetartó és egymáshoz kapcsoló kölcsönhatások kooperatív módon stabilizálják a szerkezetet!

Kovalens kötés	Hidrogén-híd	Ionos-kötés	Van der Waals	Hidrofób erők
~100 kcal/mol	~3 kcal/mol	~ 5 kcal/mol	~1 kcal/mol	~3 kcal/mol

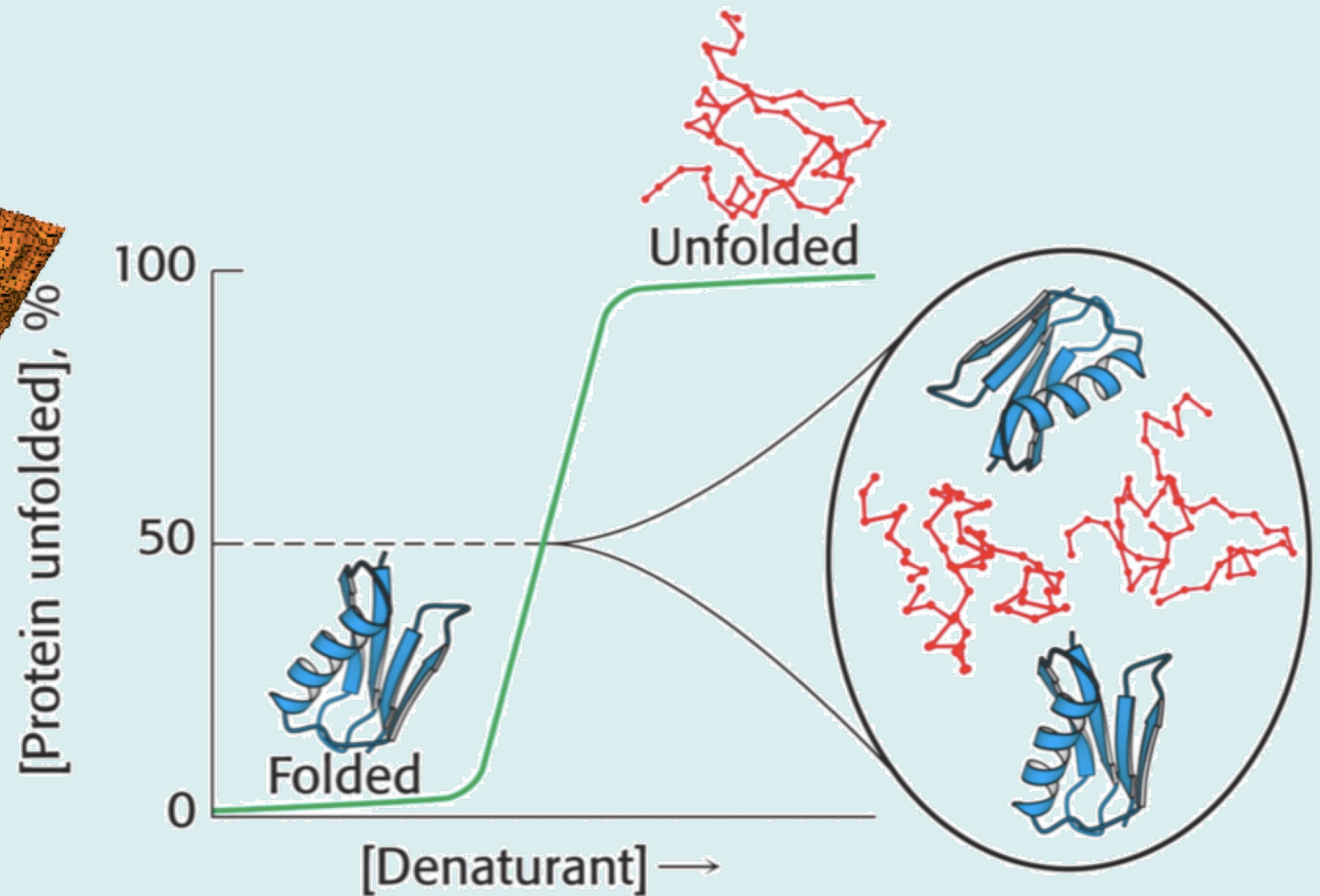
A kooperativitás következménye:  
a fehérjék szerkezete megolvad, ha  $T > T_m$



# Fehérje–feltekeredés (folding)



**Levinthal paradoxon!**



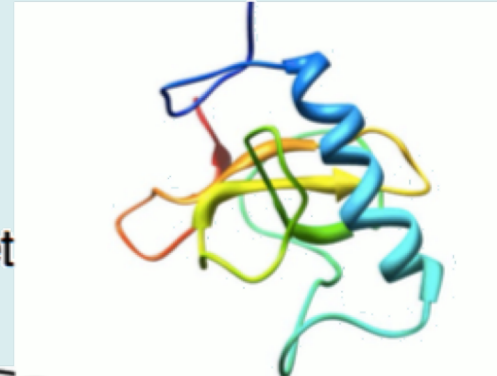
50% feltekeredés: a molekulák fele feltekeredett, a másik fele nem  
Nincs olyan, hogy félig feltekeredett (de „molten globula” van)



# A fehérjék belső mozgási időskálája

hurkok és kanyarok  
záródása

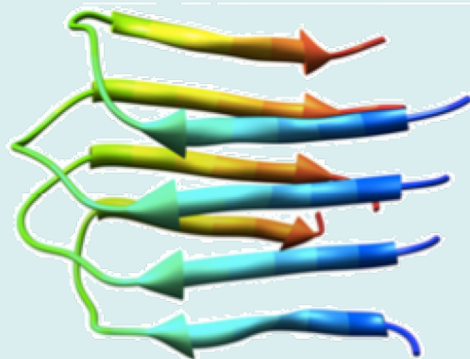
0.1ms ↔ 10ms



másodlagos szerkezet  
elemek 10ns ↔ 1ms

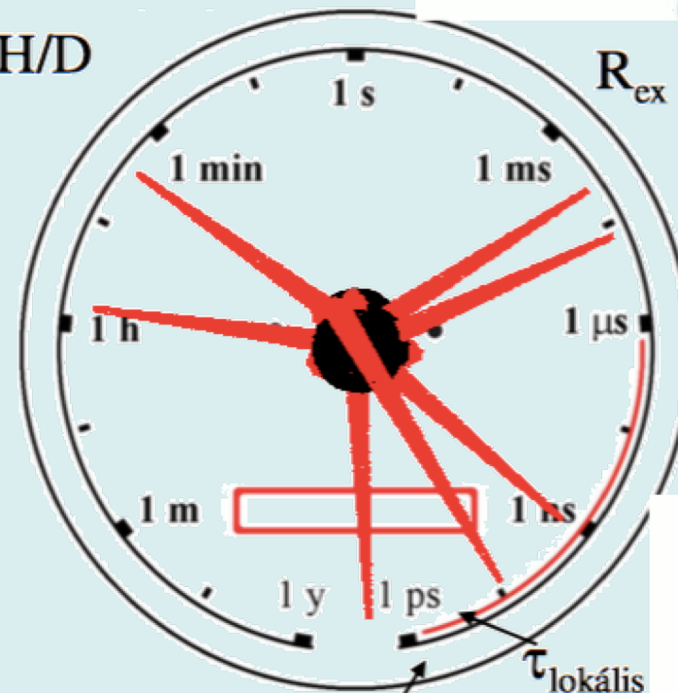


feltekeredés  
1ms ↔ 1h



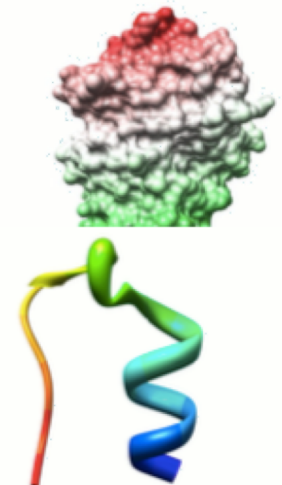
aggregáció  
1 s ↔ 1 év

H/D

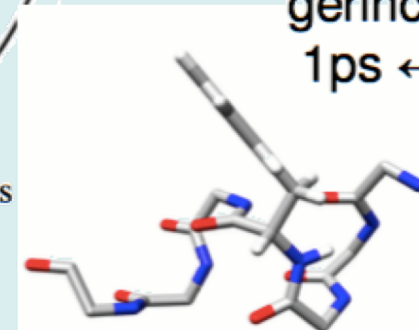


Rot. Dif.  
korrel. idő

$1\text{ ns} < \tau_c < 10\text{ ns}$



gerinc dinamika  
1ps ↔ 10ns

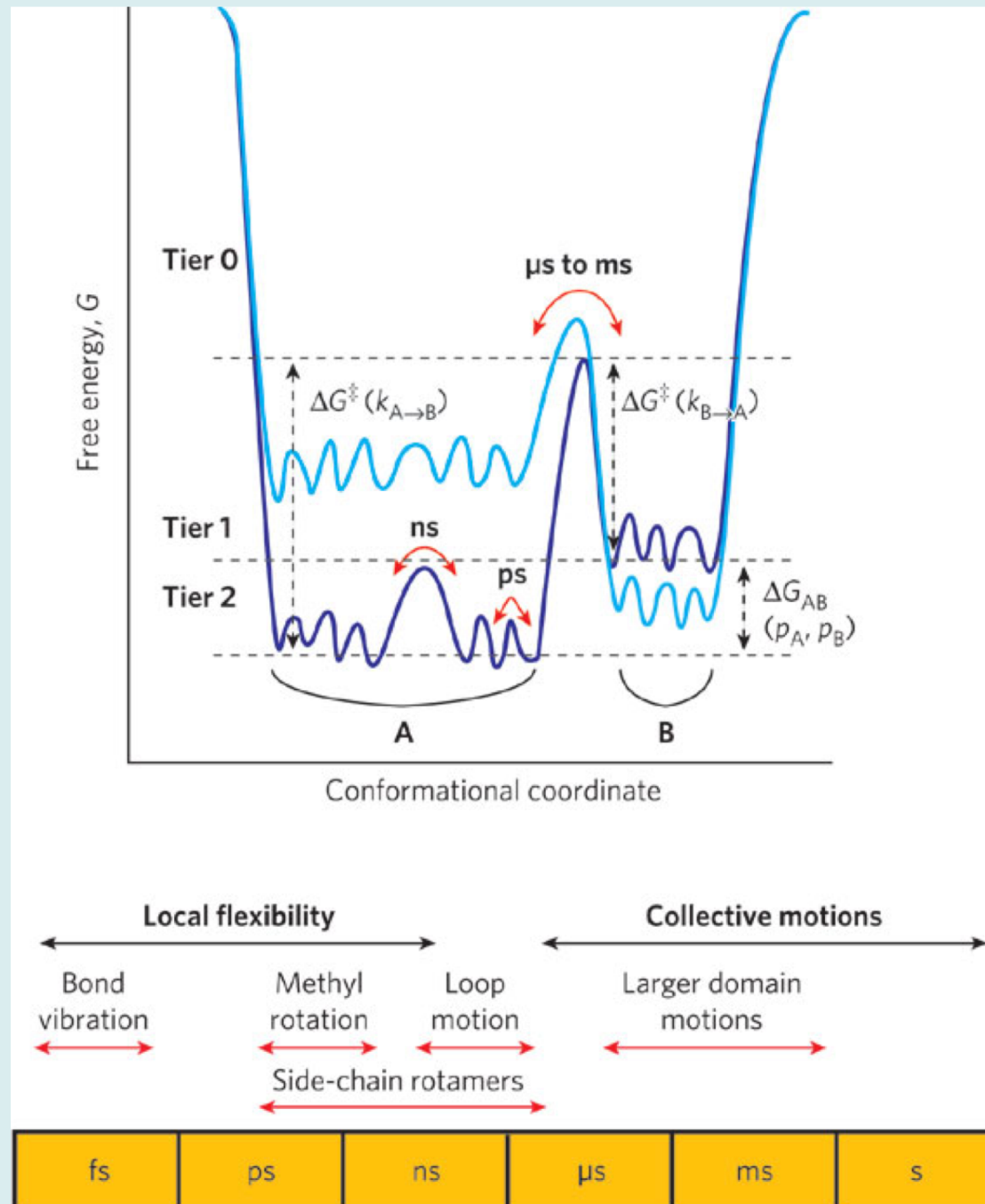


oldallánc forgás  
0.1ps ↔ 10 ps

$\tau_{\text{effektív}} = \tau_c + \tau$

$\tau_{\text{lokális}}$

# Flexibilitás és konformációs átrendeződés



# *Millisecond Dynamics of RNA Polymerase II Translocation at Atomic Resolution*

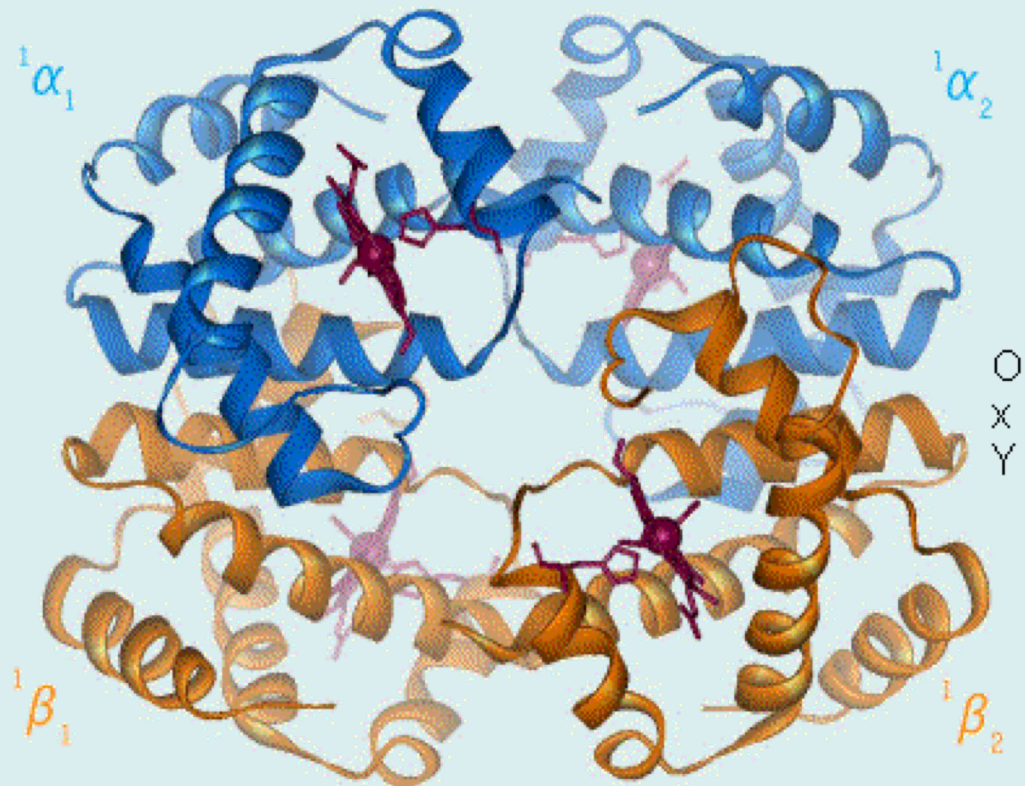
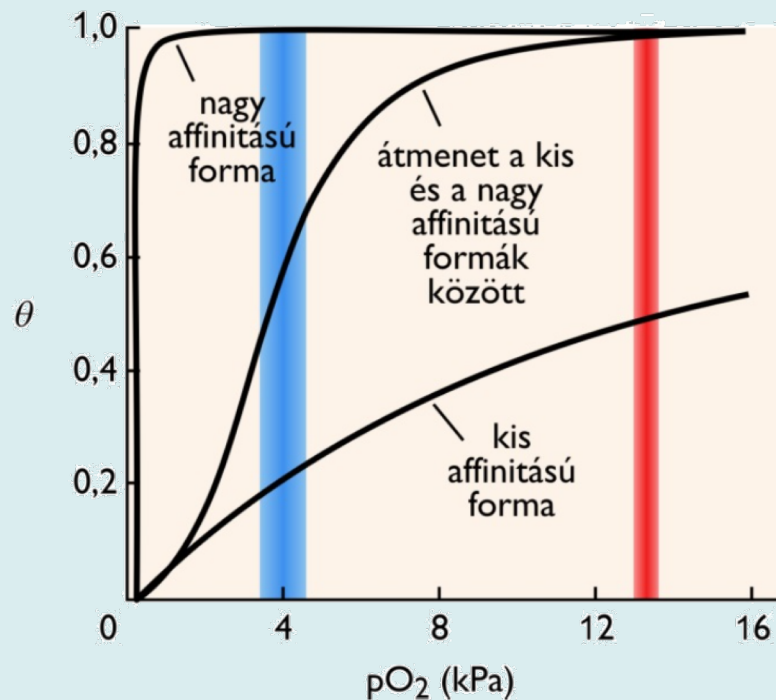
Daniel-Adriano Silva, Dahlia Weiss, Fátima Pardo-Avila, Lin-Tai Da, Michael Levitt, Dong Wang and Xuhui Huang



香港科技大學  
The Hong Kong University of  
Science and Technology

# Negyedleges szerkezet – allosztérikus szabályozás

## Hemoglobin tetramer oxigénkötése



T – merev (tense) forma: gyenge ligandum kötés

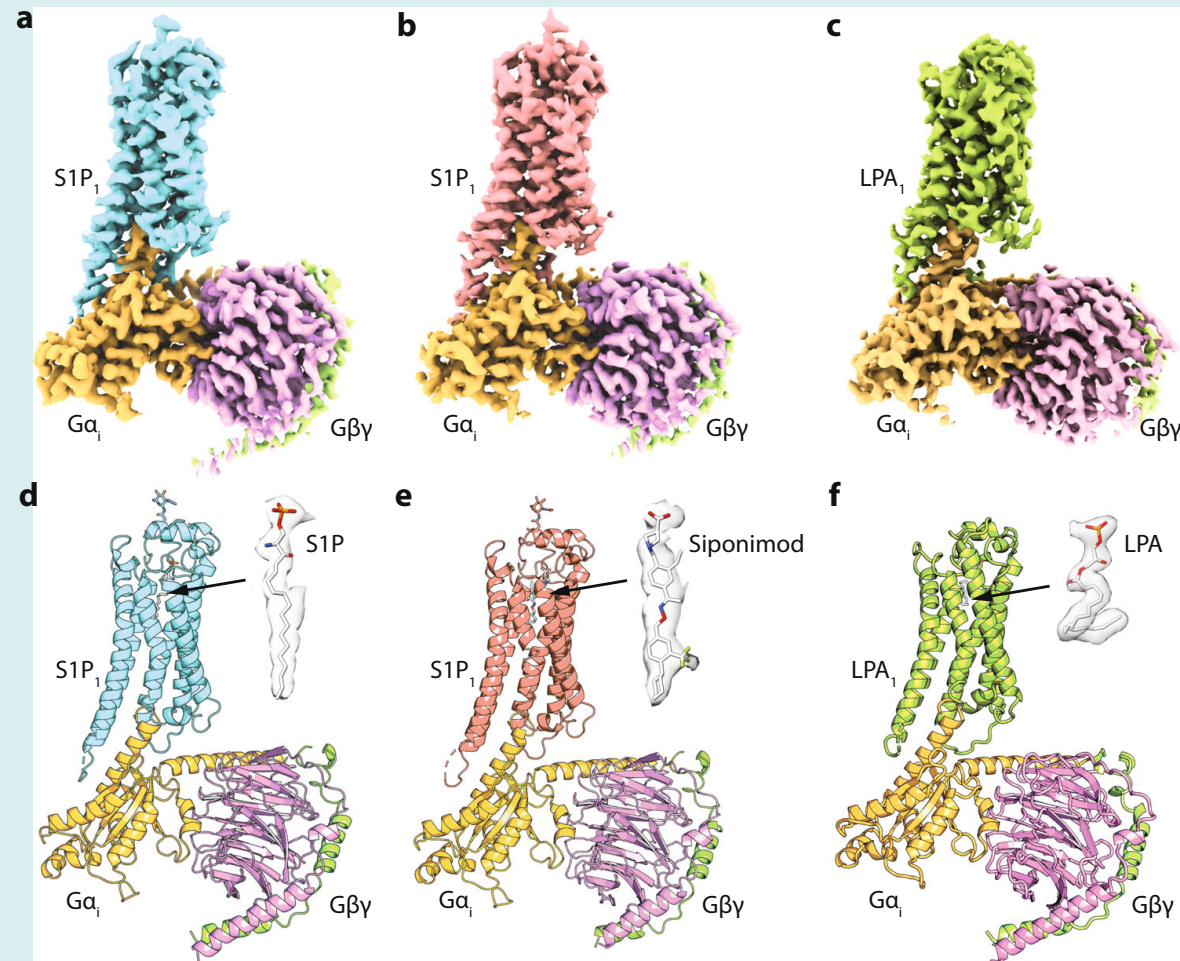
R – relaxált forma: erős ligandum kötés, aktívabb



# Kollektív oszcillációk a fehérjeszerkezetben?

NATURE COMMUNICATIONS | <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28417-2>

ARTICLE



**Fig. 1 Cryo-EM structures of the S1P-S1P<sub>1</sub>-G<sub>i</sub> complex, the Siponimod-S1P<sub>1</sub>-G<sub>i</sub> complex, and the LPA-LPA<sub>1</sub>-G<sub>i</sub> complex.** **a-c** The three-dimensional density maps of the complexes. **d-f** Cartoon presentations of the three complex structures with S1P, Siponimod, or LPA shown in spheres inside the orthosteric pockets, as well as their density maps on the sides. S1P<sub>1</sub> is colored in cyan or salmon, LPA<sub>1</sub> in green, G<sub>α</sub><sub>i</sub> in orange, G<sub>β</sub> in purple, and G<sub>γ</sub> in light green.

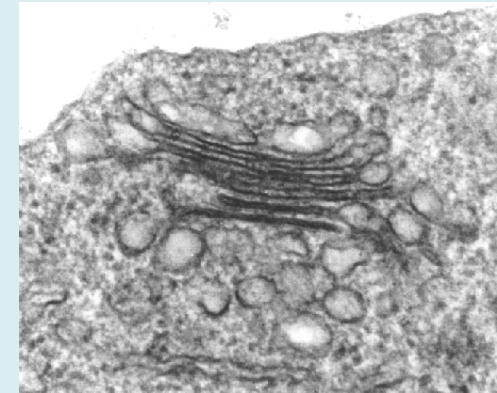
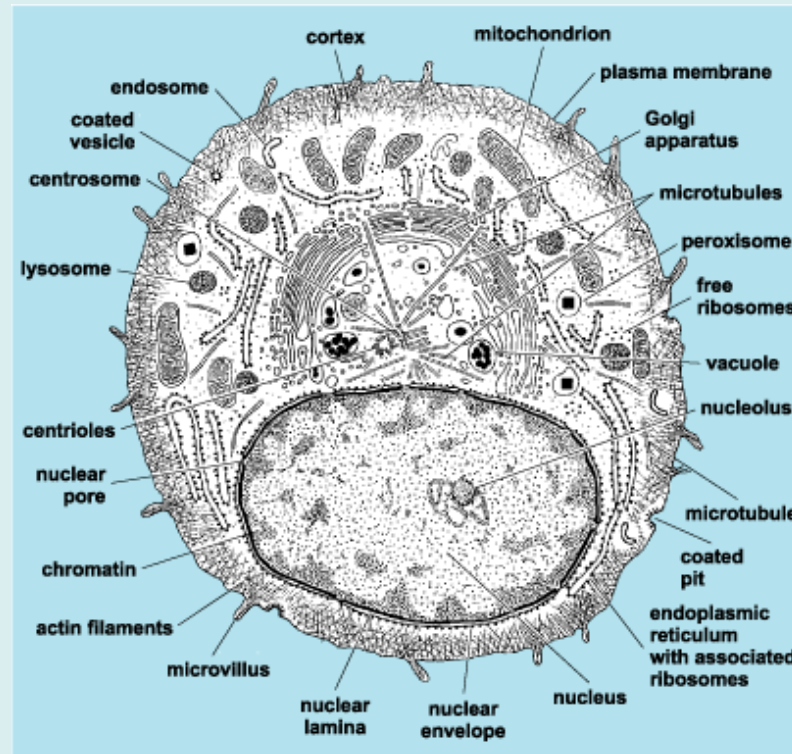
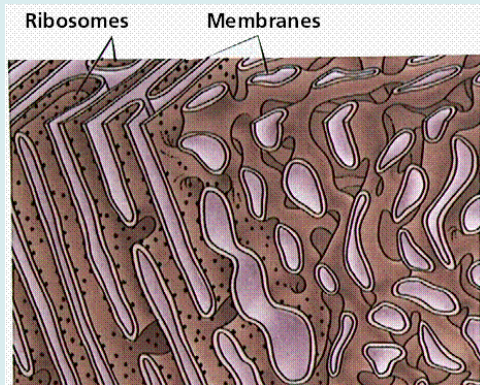


# A biológiai membránok jelentősége



*Molecular Biology of the Cell*, cover image, Garland Science, 5th Ed. 2007

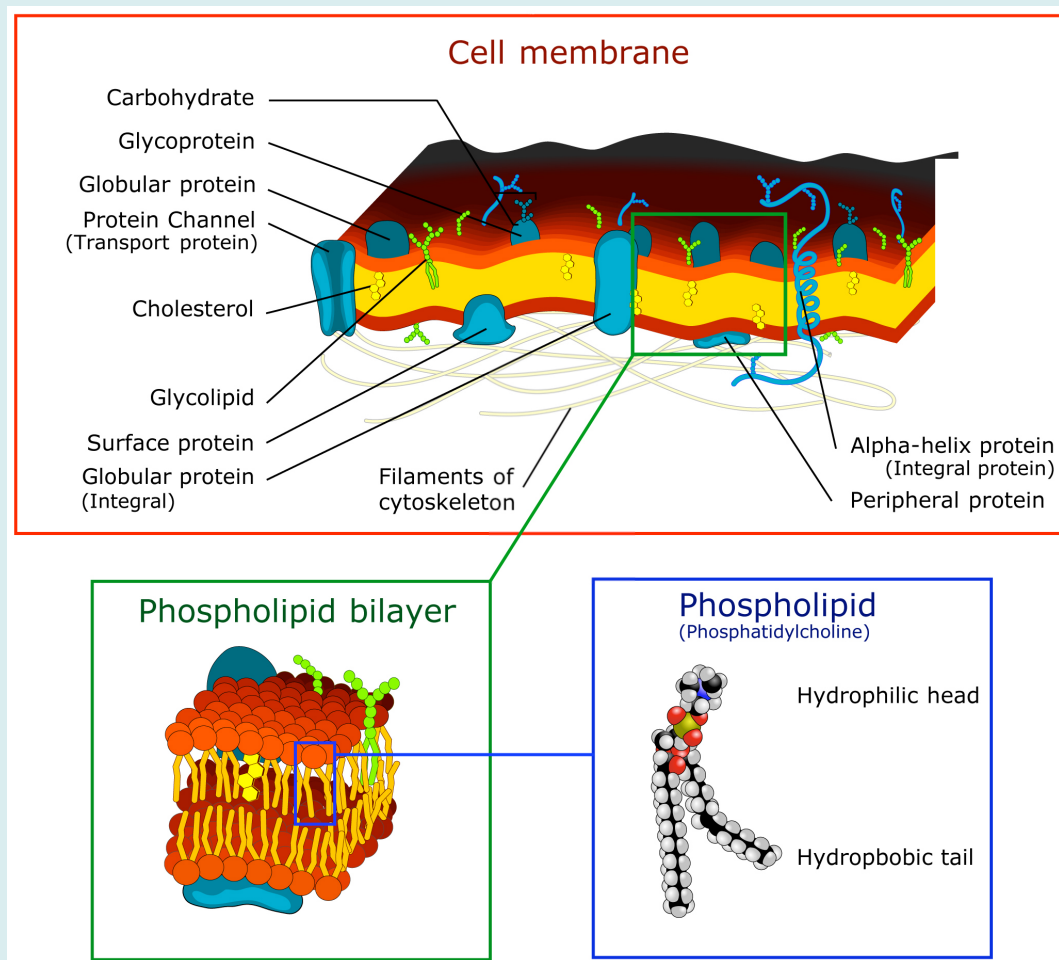
# A biológiai membránok jelentősége



A sejteket határoló plazmamembrán mellett a sejtek belsejét is nagyrészt különböző membránok töltik ki...

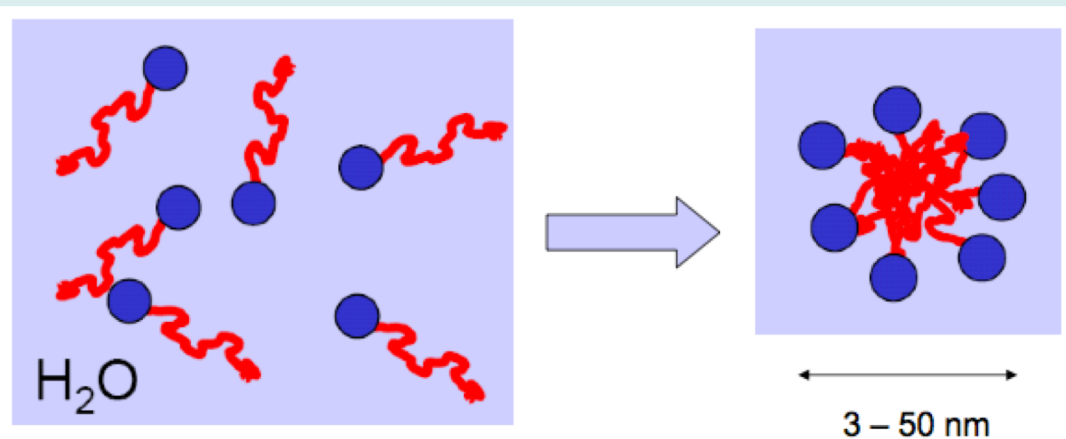
A biológiai membránok a sejt szerveződésének és működésének alapvető egységei.

# Biológiai membránok szerkezete

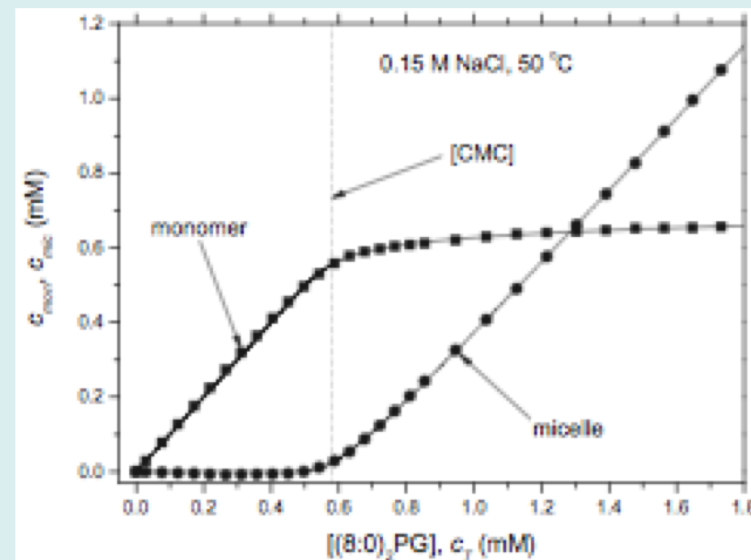


A foszfolipidek amfoter jellegük következtében spontán kettősréteget képeznek, melynek további funkcionalitást adnak a beleágyazódó, illetve kapcsolódó fehérjék. Folyékony-mozaik modell - Singer-Nicolson (1972).

# A membránok asszociációs kolloidok



a tenzid koncentráció növekedésével spontán aggregáció következik be;  
tipikus aggregációs szám: 30-100

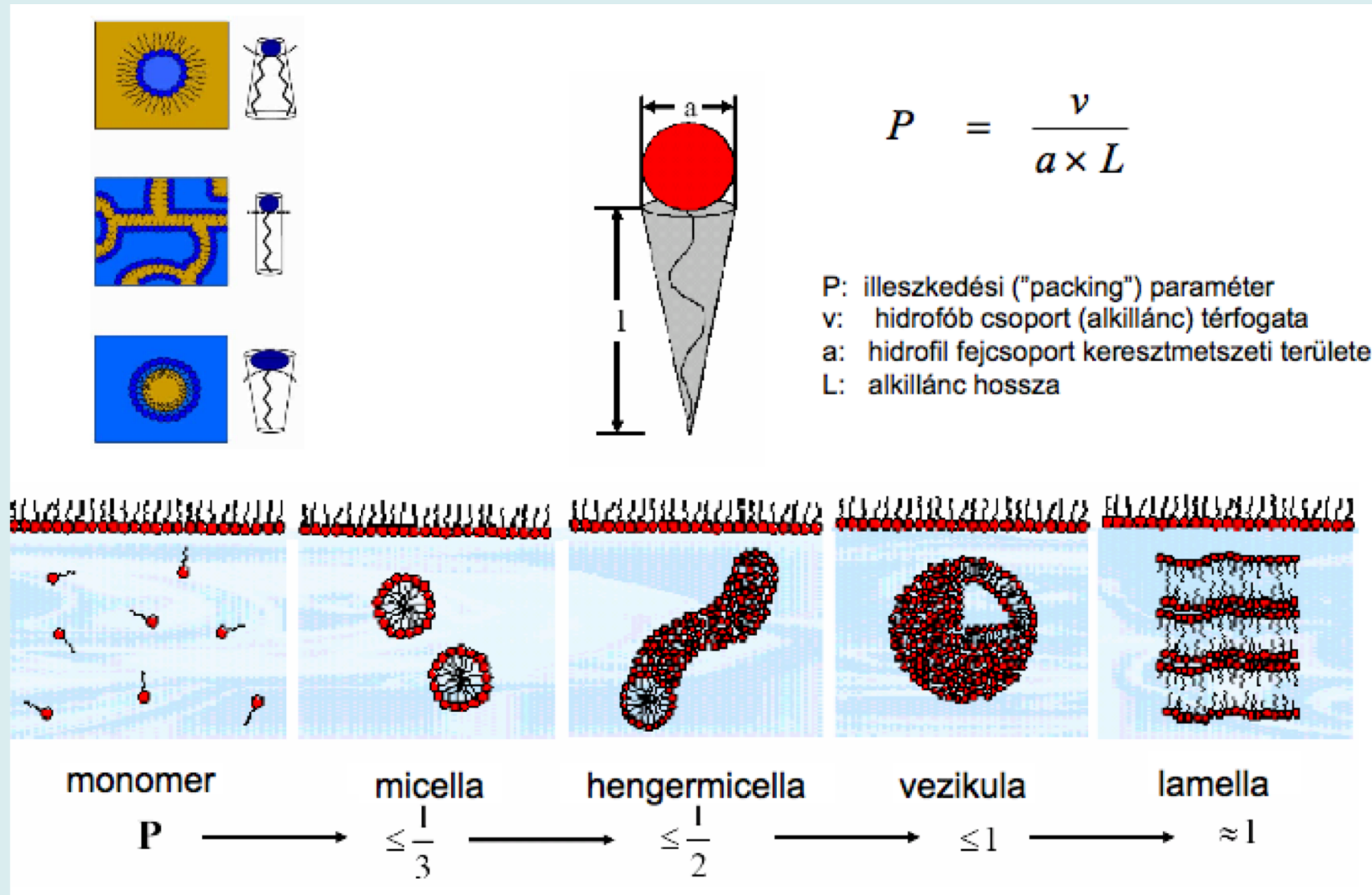


CMC =  
kritikus  
micellaképző  
koncentráció

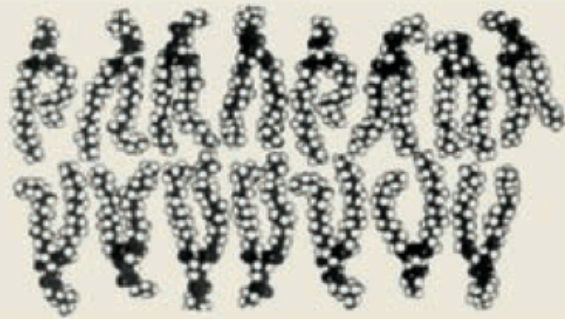
- apoláris rész mérete/alkillánc hossza: hidrofób jelleg nő → cmc csökken  
homológ soron belül:  $\lg \text{cmc} \approx a - b \times N_C$
- hidrofil fejcsoport polaritása; a poláris csoportok száma  
polaritás nő → cmc nő
- ionerősség (sóhatás) : ionos tenzidekre cmc csökken,  
nemionos tenzidek kevésbé érzékenyek
- adalék molekulák (alkohol; karbamid; stb.)  
alkoholok kis koncentrációban csökkentik;  
cukrok, karbamid növelik a cmc-t
- pH: amfoter tenzidek érzékenyek a pH-ra, egyébként normál elektrolithatás



# Az asszociációs kolloid szerkezetét elsősorban az un. illeszkedési paraméter befolyásolja



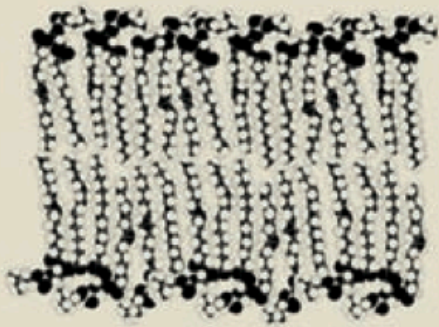
# Minden membrán-kompartmentnek sajátos összetétele és fázisdiagramja van



Liquid-crystalline,  
liquid-disordered  
 $L_d$  ( $L_d$  or  $L_\alpha$ )

$S$  = Low

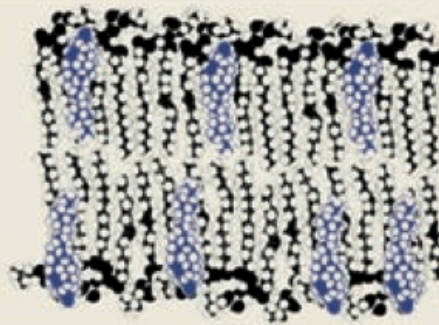
$D_T$  = Fast ( $\sim 1 \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ )



Solid gel  
 $s_o$  (or  $L_\beta$ )

$S$  = High

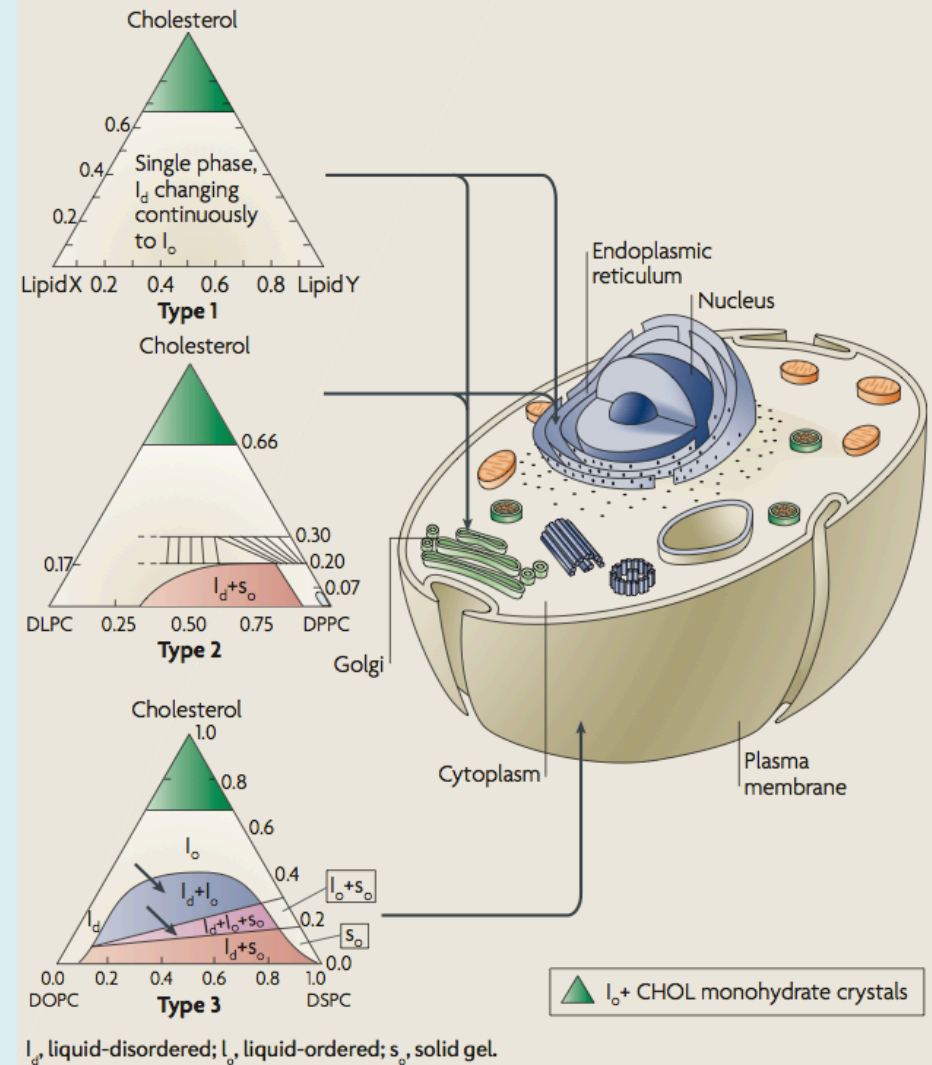
$D_T$  = Slow ( $10^{-3} \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ )



Liquid-ordered,  
'raft'  
 $L_o$  (or  $L_\beta'$ )

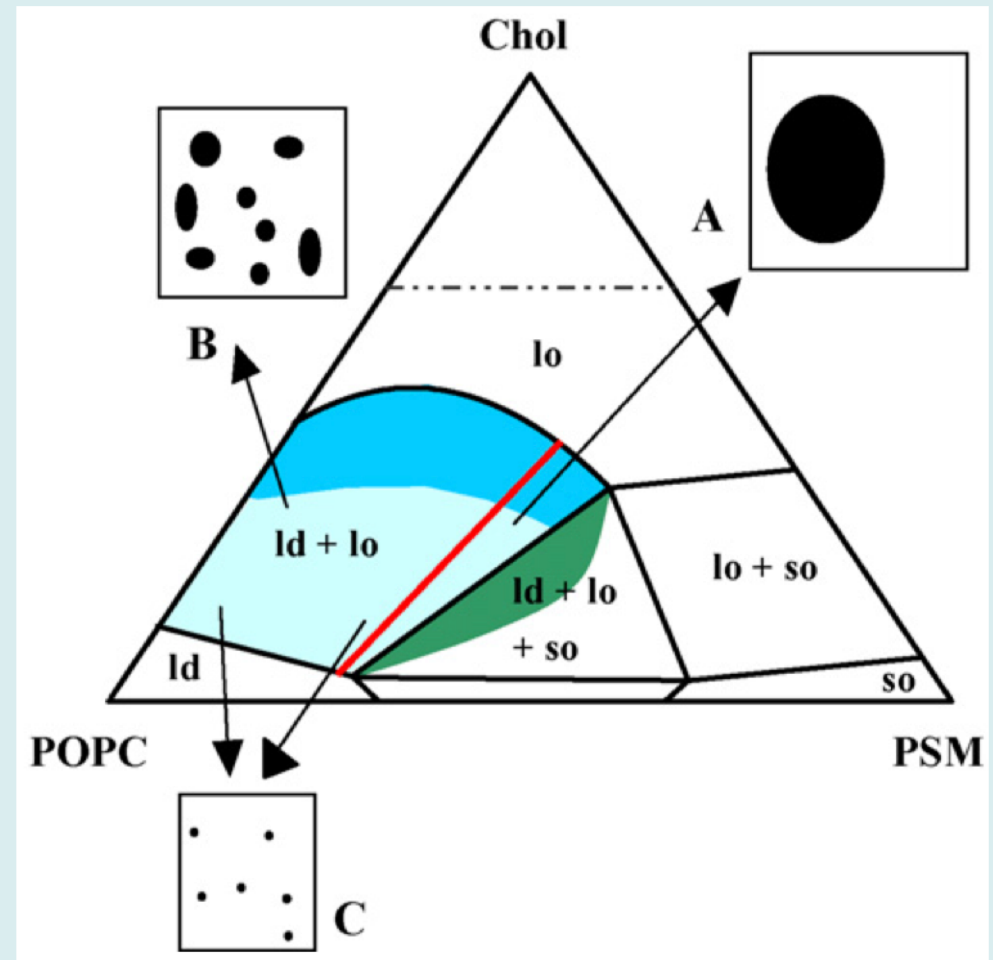
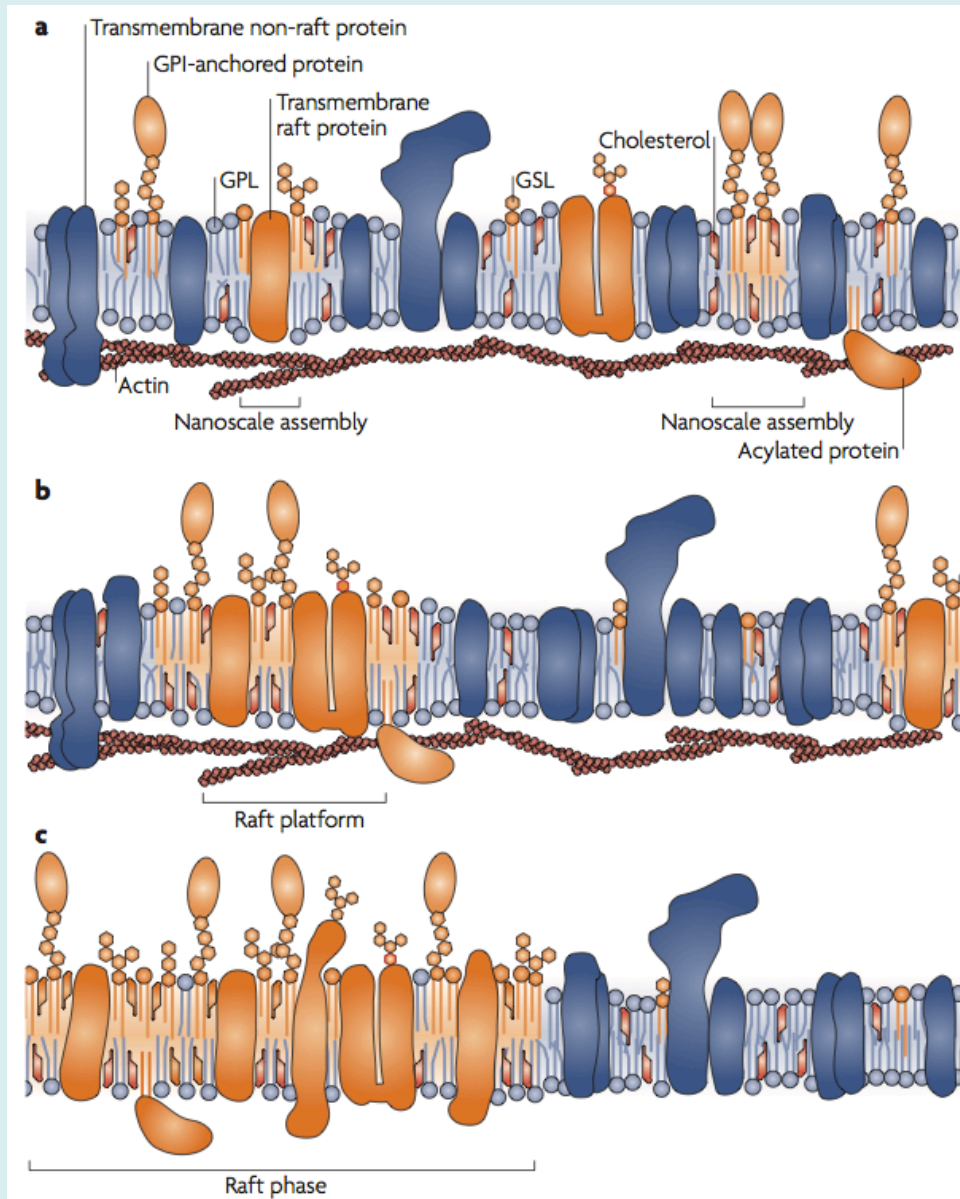
$S$  = High

$D_T$  = Fast ( $\sim 1 \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ )

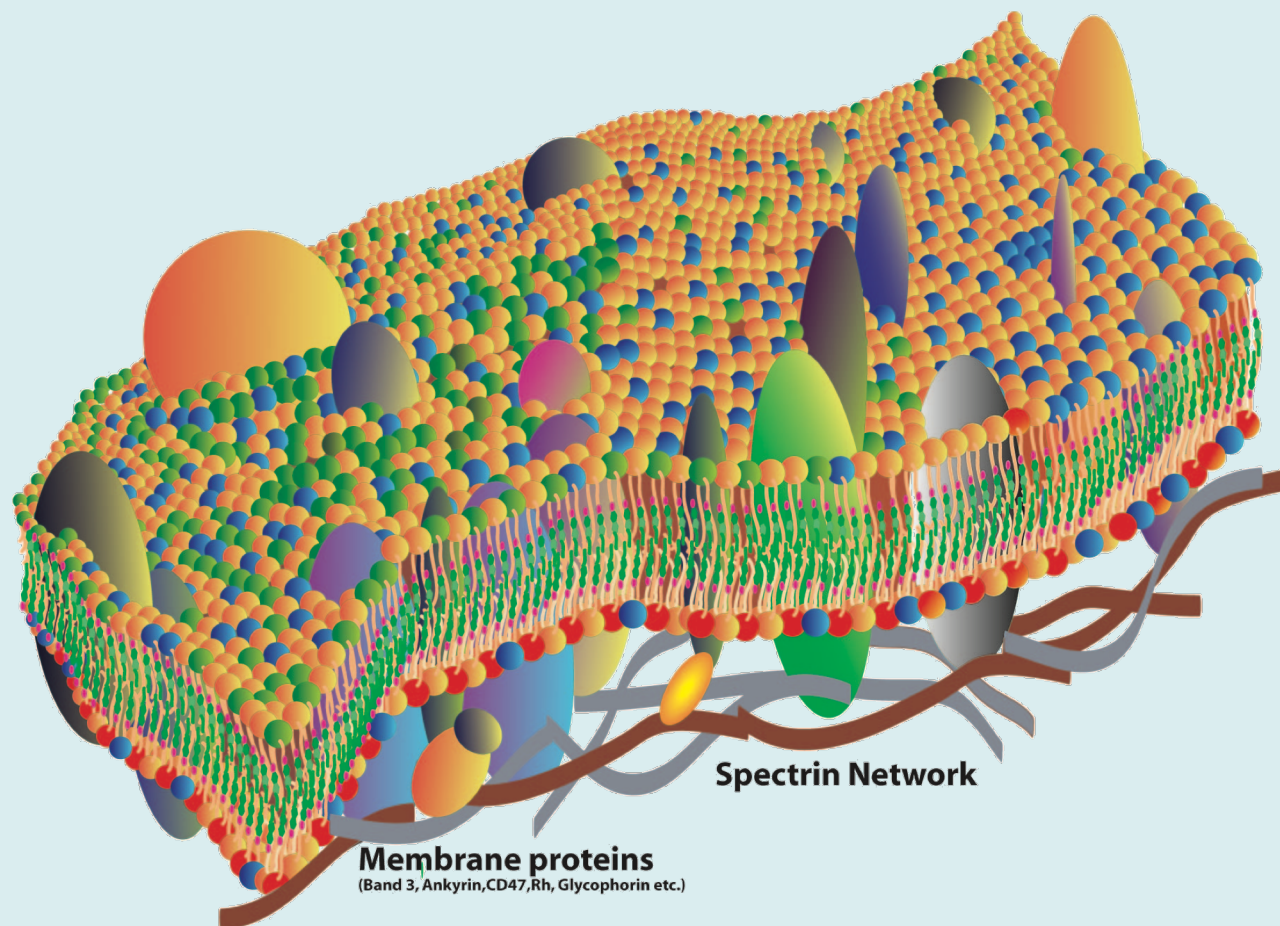




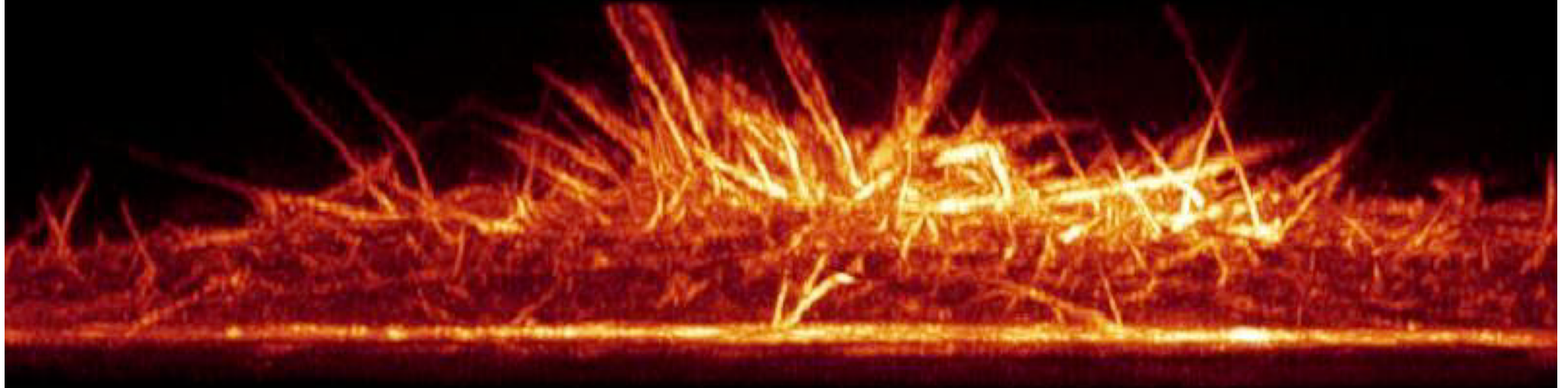
# Mikrodomének, raftok spontán képződnek és felbomlanak a lipidösszetétel változására



# A dinamikus membrán mikrodomének – a folyékony-mozaik modell továbbfejlesztése



Lattice SIM 3 phase



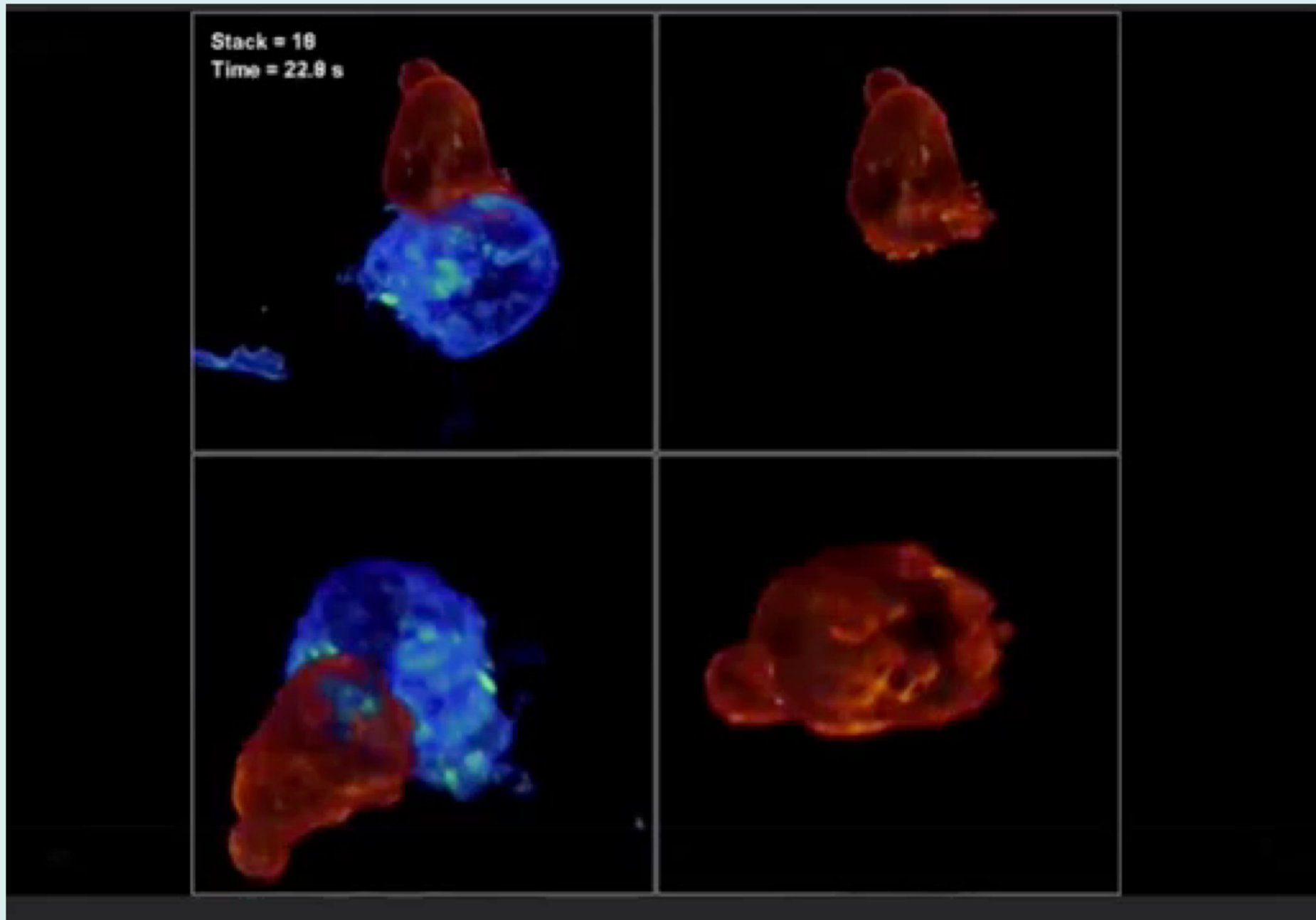
Stack = 0  
Time = 0.00 mins

HeLa cell mEmerald - Lifeact

Chen BC, ..., Betzig E. (2014)

Lattice light-sheet microscopy: imaging molecules to embryos at high spatiotemporal resolution. Science. 346(6208):1257998.  
doi: 10.1126/science.1257998.

T-sejt (barna) + antigént hordozó sejt (kék) (1.3 s/kocka)



Kapcsolódó fejezetek:

*Damjanovich, Fidy, Szöllősi: Orvosi Biofizika*

I./2

2.1

I/4

4.1

4.3

I/5

5.1