

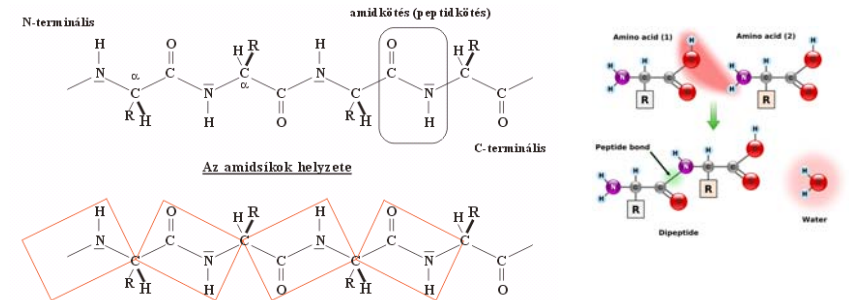
# Szerkezeti proteomika módszerei

## II.

### Bevezetés

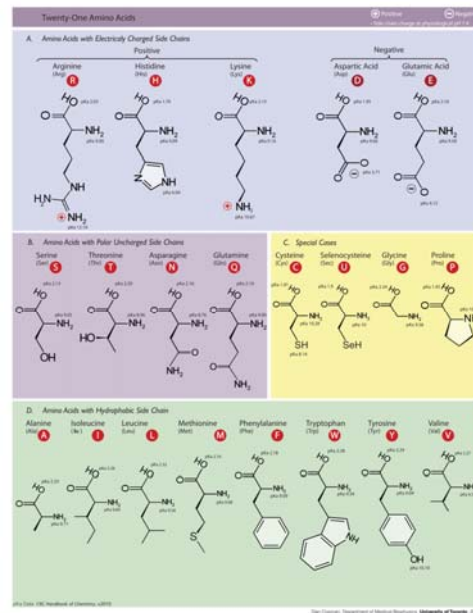
**Protein** – fehérje:

~ 50 aminosavnál hosszabb polimer lánc <-> peptid

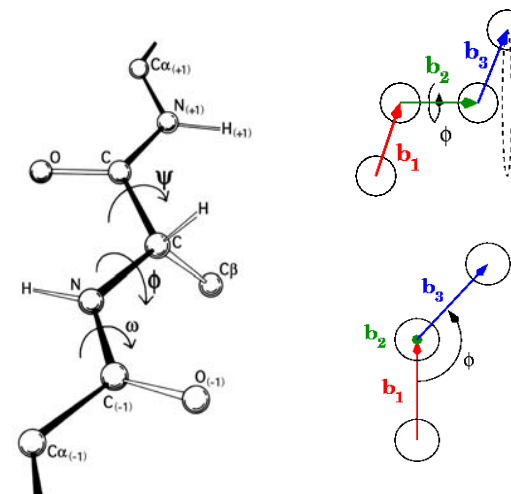


20-féle aminosav

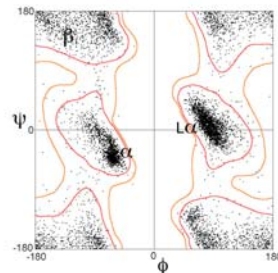
Kölcsönhatások sokfélesége



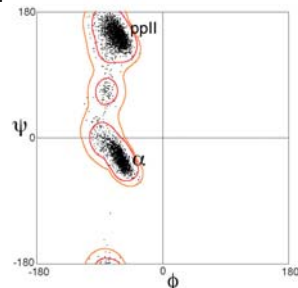
Dihedrális szög: két sík szöge



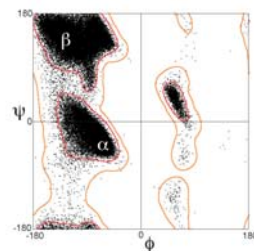
Glicin



Prolin

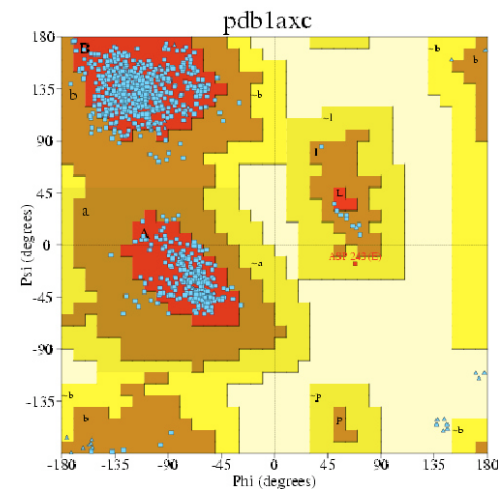


Fehérje alfa helikális és béta-redős szerkezete



Ramachandran plot

generated from human [PCNA](#), a trimeric [DNA clamp](#) protein that contains both [β-sheet](#) and [α-helix](#) (PDB ID 1AXC). The red, brown, and yellow regions represent the favored, allowed, and "generously allowed" regions as defined by ProCheck



## Proteomika

the study of an organism's complete complement of proteins

Azonosítás – *funkció* felderítése

**Proteom:** The entire set of [proteins](#) expressed by a genome, cell, tissue or organism in a given type of cells or an organism at a given time under defined conditions.

The 35,000 genes in the human genome can code for at least ten times as many proteins; in extreme cases a single gene alone can code for over 1,000.

## Szerkezeti proteomika

the *high-throughput* procedures for **protein production**, to the **solution of the structures** of proteins and higher-order entities, via a multidisciplinary approach involving **molecular biology**, **X-ray crystallography**, **NMR** and **electron microscopy**, as well as **bioinformatics** analysis (+Mass spectrometry).

*Szerkezet* ↔ *funkció*

## Szerkezeti proteomika módszerei I.

### protein production

### solution of the structures via

- molecular biology
- X-ray crystallography
- NMR
- electron microscopy
- mass spectrometry
- bioinformatics

## Szerkezeti proteomika módszerei I.

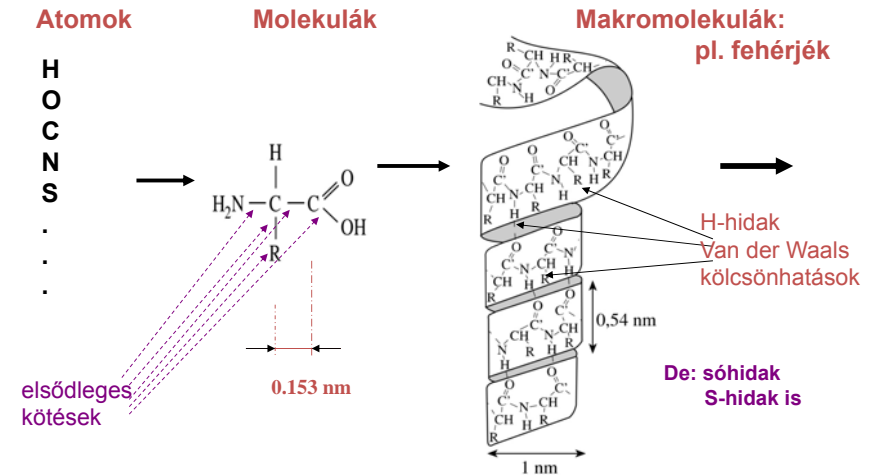
protein production

solution of the structures via

- molecular biology
- X-ray crystallography
- NMR
- electron microscopy
- mass spectrometry
- bioinformatics

Néhány szó a fontosabb módszerekről (szerkezeti proteomika I.)

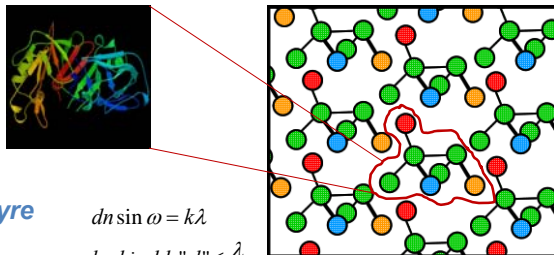
## Biológiai rendszerek szerkezetét a kötések **hierarchiája** jellemzi



## 1. A röntgenkristallográfia módszere

fehérjékre alkalmazva

Mérés feltétele:  
A fehérje kristályosítása

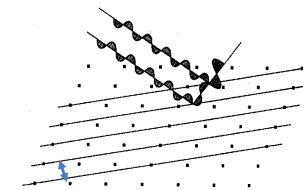


**d** jelentése itt: - kötéstávolságok a kristályban  
- kristály-pontok : molekulák atomi távolságai

$d \sim 0.1 \text{ nm}$

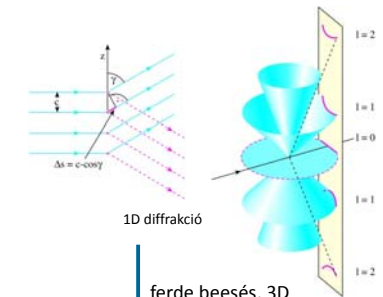
$\lambda \sim 0.1 \text{ nm}$  **röntgensugárzás!**

## A röntgenkristallográfia módszere fehérjekristallográfia



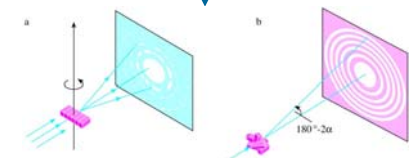
Röntgensugarak interferenciája  
kristálysíkokról történő **reflexiónál**:

**Bragg-egyenlet**

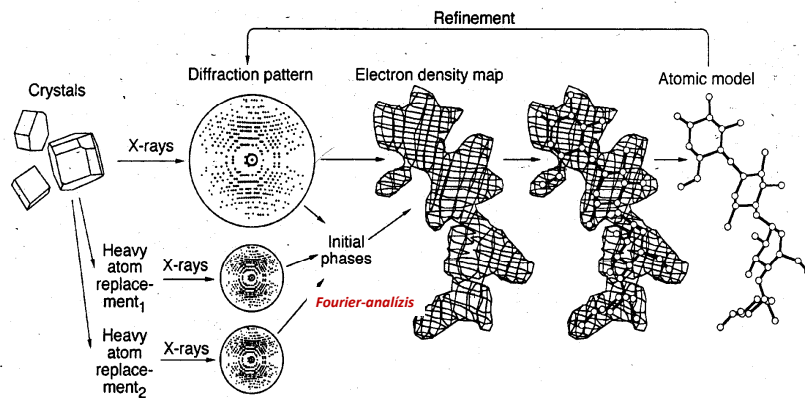


ferde beesés, 3D  
**Laue-egyenletek**

$$\begin{aligned} a(\cos \alpha - \cos \alpha_0) &= h\lambda \\ b(\cos \beta - \cos \beta_0) &= k\lambda \\ c(\cos \gamma - \cos \gamma_0) &= l\lambda \\ \cos^2 \alpha + \cos^2 \beta + \cos^2 \gamma &= 1 \end{aligned}$$

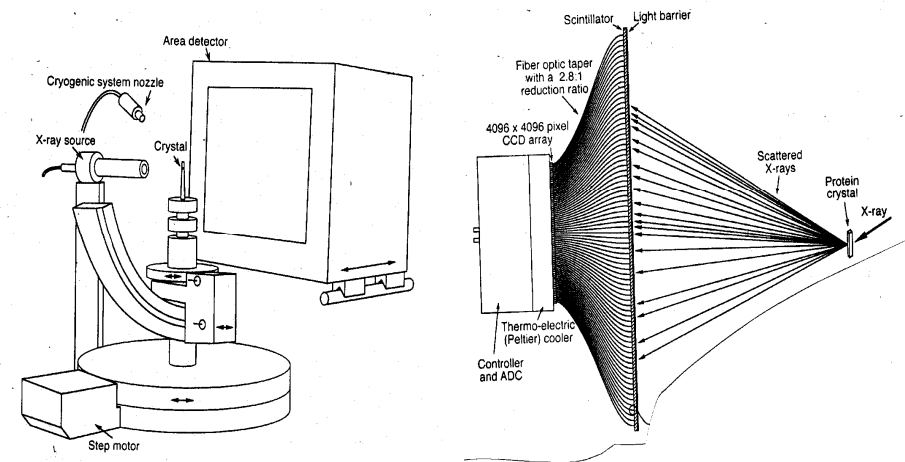


## A szerkezetmeghatározás menete



## A mérőrendszer

Monokromatikus röntgen-nyaláb előállítása kristályon való diffrakcióval



## Kis-szögű röntgenszórás

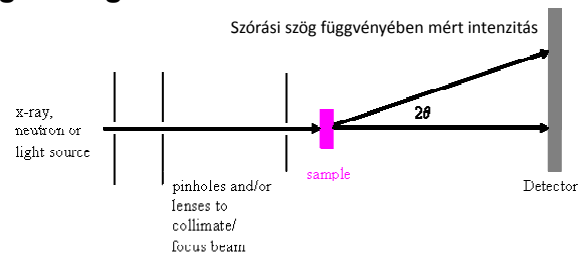


Figure 1.1: Schematic of x-ray process

Scattering of x-rays is caused by differences in electron density, scattering of neutrons is caused by differences in scattering power of different nuclei.

$$d \approx \frac{\lambda}{n \sin \omega}$$

Ha az interferenciát kis szög alatt figyeljük meg, ezek a maximumok a nagyobb szerkezeti egységekhez tartoznak

A mért szög-függvényt modell-illesztéssel értékeljük ki.

## 2. Tömegspektrometria

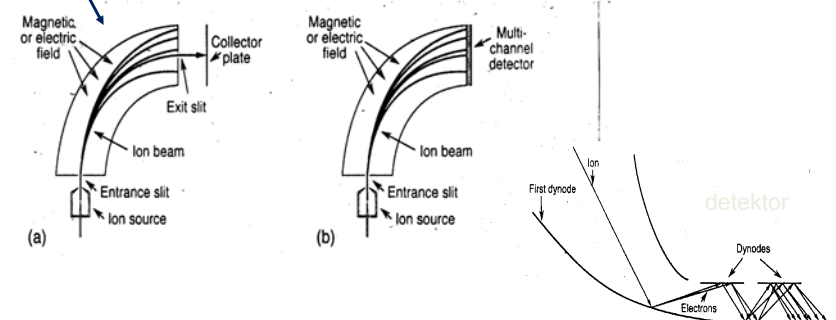
Alapja: molekulák  $m/Z$  paraméterének meghatározása ionizált állapotban - makromolekulák  $10^{-12}g$ -ja analizálható

elektromos  $E_{kin} = \frac{1}{2}mv^2 = ZeV_{gyors}$

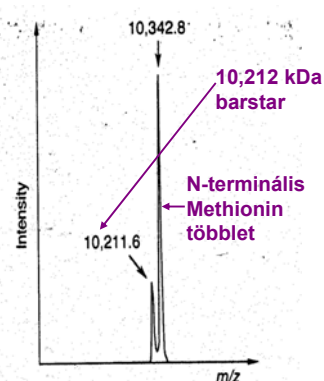
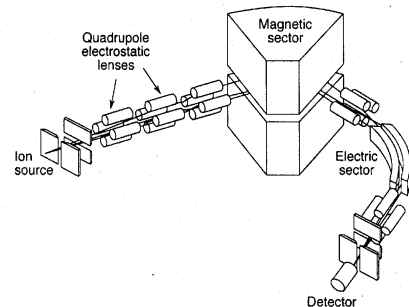
mágneses  $Lorentz \text{ erő } F = ZevB = m \frac{v^2}{r}$

gyorsítás és eltérítés

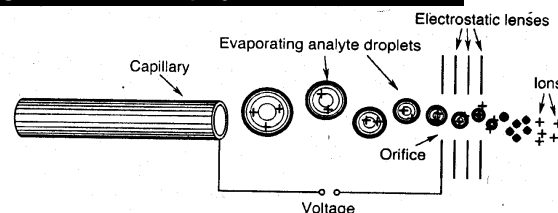
$$r \longleftrightarrow m/Z$$



## A mérőelrendezés



## Fragmentáció elektro-spray ionizációs módszerrel



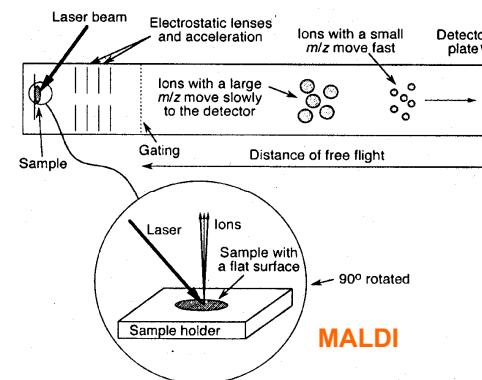
## Ionizációs technikák

Elektronbombázás  
Ionbombázás  
Kémiai ionizáció  
Elektro-spray  
MALDI

## MALDI – Time Of Flight módszer

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation

$$m \frac{v^2}{2} = ZeV \rightarrow t = t_{TOF} \sqrt{\frac{m}{2ZeV}}$$



MALDI

## 3. NMR spektroszkópia

Mag mágneses rezonancia elv alkalmazása a makromolekulákban  
különböző kémiai környezetben levő azonos fajta atommagok ( $^1H$ ,  $^{13}C$ ,  $^{15}N$ ) megkülönböztetésére. Kiválasztott atommagok mágneses dipólusainak kölcsönhatásából atomi távolságok is meghatározhatók

$$hf = 2\mu B_0(1 - \sigma)$$

Larmor frekvencia

Kémiai eltolódás

$$\frac{hf_1 - hf_2}{hf_0} = \frac{\omega_1 - \omega_2}{\omega_0} (ppm)$$

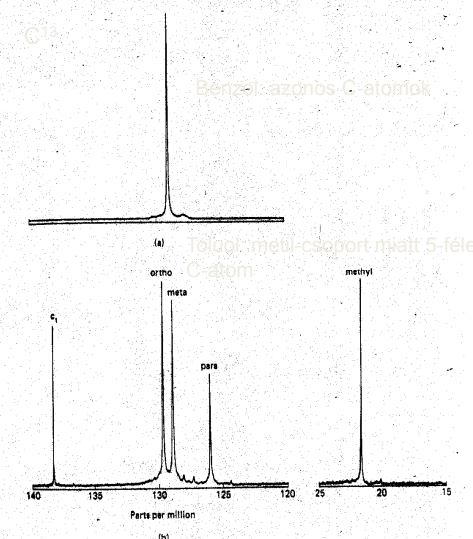
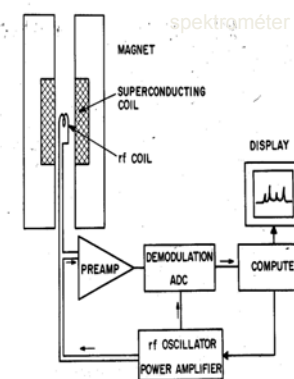
Pl. tetrametilszilán

Árnyékolási effektus  $\sigma$

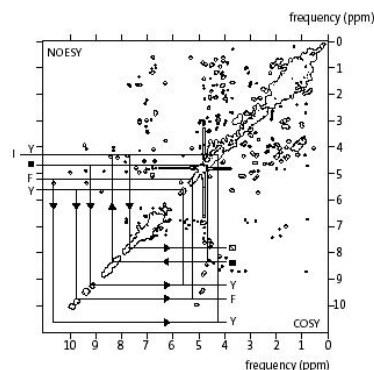
A külső tér perturbálja az atomi és molekuláris pályák elektronjait

Más környezet  $\rightarrow$  más  $f$

## NMR spektrumok



## Több dimenziós és korrelációs NMR módszerek



## 4. Elektronmikroszkópia

Az elektron-nyaláb hullámtermészete – „anyag-hullám”

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

10-100 kV-al gyorsított elektronok-> nagy sebesség,  $\lambda$  kicsi -> **nagy felbontás?**

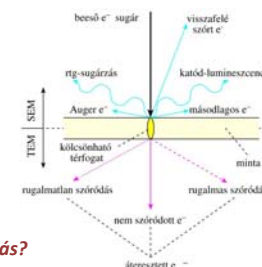
$$d \geq \frac{\lambda}{\text{num.ap.}}$$

← kicsi  
← **technikai okokból igen kicsi**  
~  $10^{-3}$

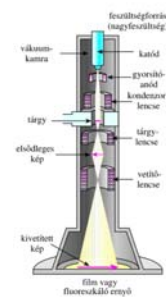
$$d \geq 0.5 \text{ nm}$$

Nagyobb szerkezeti egységek

**Probléma: mintatér vákuumban!**



Az elektronmikroszkóp felépítése



## Szerkezeti proteomika módszerei II.

A kurzus célja néhány olyan szerkezet-meghatározó módszer részletesebb ismertetése, amelyek

- Az Intézetben elérhető, használatosak
- A gyors, elsődleges proteomikai szerkezet-meghatározó módszerek eredményeire építenek, abból indulnak ki
- A funkciók szempontjából fontos, további szerkezeti pontosításokhoz vezetnek
- Általában valamely külső perturbáció hatására adott válasza alapján
- A szerkezetet meghatározó kölcsönhatások erősségét tesztelik

## Molekulák

**közötti kölcsönhatások biológiai rendszerekben**

**Molekulaszerkezetek kovalens kötése** → **kémia ?**

## Elektrosztatikus kölcsönhatások

### 1. Coulomb kölcsönhatás

$q_1$  és  $q_2$  ponttöltések  $r$  távolságban

potenciális energia

$$E_{Cb} = \frac{q_1 * q_2}{\epsilon * r}$$

(relatív) dielektromos állandó

## A relatív dielektromos állandó $\epsilon$

(„dielektrikum”: elektromos tér áthatol az anyagon – Faraday)

Definíció: kondenzátor kapacitása alapján

fegyverzetek között vákuum  $\rightarrow U_o$

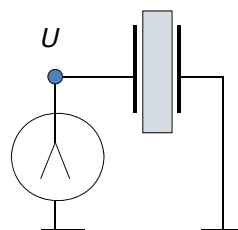
fegyverzetek között dielektrikum  $\rightarrow U < U_o$

dielektrikum kivétele  $U \rightarrow U_o$  ( $q_o = q$ )

$$C = \frac{q}{U}, \quad C_o = \frac{q}{U_o} \Rightarrow C > C_o$$

$$\epsilon = \frac{C}{C_o} = \frac{E_o}{E} > 1 \quad E = \frac{F}{q} \left[ \frac{\text{Newton}}{\text{Coulomb}} = \frac{N}{C} \right] \text{elektromos térerősség}$$

A dielektrikum részecskéi polarizálódnak elektromos térben:  
a fegyverzeteken tárolt töltés erőtere csökken

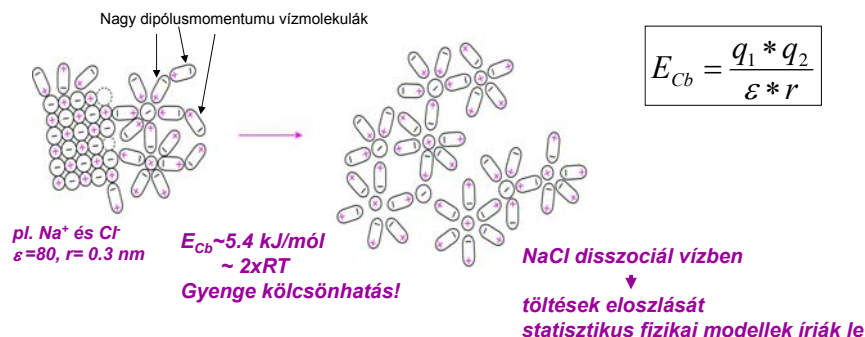


Két fontos közeg

víz  
apoláros hidrokarbonok

$\epsilon$   
80  
~2

Jelentősen módosítják az  
elektrosztatikus kölcsönhatásokat



## A Coulomb-potenciál termodinamikai értelmezése ionos oldatban

$E_{Cb}$  az elektrosztatikus tér munkáját adja meg **állandó hőmérsékleten és nyomáson** miközben a töltések távolsága végtelenről „r”-re változik

$E_{Cb}$  a **G Gibbs potenciál-változásnak felel meg**  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$   
miért lehet a  $Cb$ -potenciálnak entropikus jellege?

Pl. vizes közeg

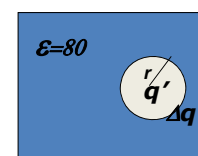
$$\Delta S = -\frac{\delta \Delta G}{\delta T} = -\frac{\delta}{\delta T} \left( \frac{q_1 * q_2}{\epsilon * r} \right) = \frac{q_1 * q_2}{\epsilon^2 * r} \frac{\delta \epsilon}{\delta T} = \Delta G \frac{1}{\epsilon} \frac{\delta \epsilon}{\delta T}$$

vízre: -0.0046/K  
 $T\Delta S$  (T=300K) = - 1.38  $\Delta G$

a  $Cb$  potenciál ellen hat!

A  $Cb$  potenciál nemcsak a kötési energiát fedezi ( $\Delta H$ ), hanem az ionoknak a vízmolekulákat rendező (S csökken!) hatását is!

A Coulomb-potenciál-ból származtatott hidratációs energia  
Born-energia



$$\delta G = \frac{q' * \delta q'}{\epsilon * r}$$

$$\Delta G = \frac{1}{\epsilon * r} \int_0^q q' dq' = \frac{q^2}{2\epsilon * r}$$

A végzett munka ha egy  $\epsilon$  dielektromos állandójú közegbe, egy r-sugarú üregbe q töltést viszünk be **pl. hidratációs energia**

Mekkora a végzett munka, ha egy iont ( $\text{Na}^+$ ) vízből egy makromolekula v. lipid membrán belsejébe akarunk átvinni?

$$\Delta G_{total} = \Delta G(\epsilon = 80) - \Delta G(\epsilon = 2) = -355 \text{ kJ/mol}$$

**Nagy érték!**  
 $r=0.095 \text{ nm}$ , ion-rádiusz



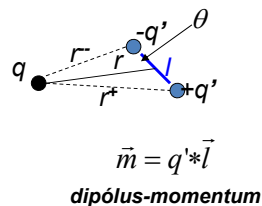
## 2. Dipól-kölcsönhatások

ponttöltés – dipól, dipól – dipól, statikus dipól, forgó dipól, indukált dipól

Egyszerű példa: ponttöltés – álló dipólus

$$E_{el.sztat.} = -\frac{q' \cdot q}{\varepsilon \cdot r^-} + \frac{q' \cdot q}{\varepsilon \cdot r^+} \approx -\frac{q \cdot m \cdot \cos \theta}{\varepsilon \cdot r^2}$$

ha  $l \ll r$



erősebben csökken a távolsággal

**Trend:** minél bonyolultabb töltéeloszlások hatnak kölcsön, annál erősebben csökken az energia a távolsággal

**Pl. két dipólus  
+ orientációs mozgás**

$$E_{MozgóDip-Dip} = -\frac{m^2 \cdot m_2^2}{3\varepsilon^2 \cdot r^6 \cdot kT}$$

szabad rotáció csökkenti a kh. erősségét és rövidíti a hatótávolságot

Setlow and Pollard: Molecular Biophysics, Chpt.6, Palo Alto, Addison-Wesley, 1962

Egy különleges dipól – kölcsönhatás

Diszperziós kölcsönhatás  
van der Waals kölcsönhatás  
(London-féle erő)

**Megjegyzések:**

--  $\alpha$  molekulák polarizálhatósága :  $\vec{m} = \alpha \cdot \vec{E}$

--  $\varepsilon$  helyett  $n$

$$\varepsilon_{víz} \gg n_{víz} \Rightarrow E_{MozgóDipólok} \ll E_{Diszp}$$

-- formula érvényes, ha  $r \gg l$

$$E_{diszp} = -\frac{1}{r^6} \cdot \frac{\alpha_1 \cdot \alpha_2}{3n^4} \cdot \frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2}$$

Ezt a faktort nehéz általában elméletileg meghatározni, empirikus módszerekkel határozzák meg

-- speciális eset: hosszúság alakú II hidrokarbon láncok  
fehérjék, membránok lipidjei  $E_{diszp} \approx \frac{1}{r^5}$

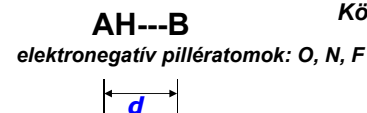
dipólus-momentum

elektromos térerősség

Az elektrosztatikus kölcsönhatások potenciális energiájának távolság-függése, és átlagos energiája

Kölcsönhatás	Energia-függvény távolság-függése	Átlagos kölcsönhatási energia (kJ/mól)
ion-ion	$r^{-1}$	200 - 300
ion - álló dipólus	$r^{-2}$	10 - 20
álló dipólus – - álló dipólus	$r^{-3}$	1 - 2
dipólus – dipólus hőmozgás mellett	$r^{-6}$	0.3
diszperziós kölcsönhatás	$r^{-6}$	2

## Hidrogén-hidas szerkezetek



Kölcsönhatás összetett: - kovalens  
- elektrosztatikus - diszperziós

$d <$  van der Waals rádiuszok összege

Nagysága széles tartományban fordulhat elő

3 - 4 kJ/mól  $\longrightarrow$  80 - 100 kJ/mól  
alifás szénhidrogének enzimatisz katalízis

12 - 35 kJ/mól  
biológiai makromolekulák

**Víz - szerkezetek**

	$\Delta H$ (kJ/mól)
H <sub>2</sub> O....HOH	
gáz	-23
folyadék	-14
jég	-12 -30

**Rendkívüli tulajdonságok**

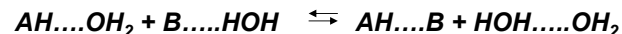


## Hidrogén-hidas szerkezetek

### Biológiai makromolekulák térszerkezetének kialakulása

- speciális szempontok:
- kötéserősség függ a környezettől
  - nem a  $\Delta H$  hanem a  $\Delta G$  vezérli

?

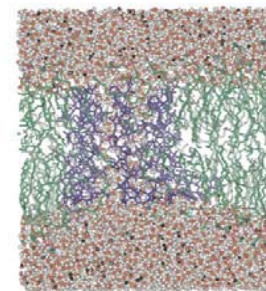


- amidok és karbonil csoportok erősen polárosak, de H-kötés csökkenti a polaritást  $\rightarrow$  H-kötések erősebbek a fehérjék és lipid membránok belsejében
- network – formációk: H-donor atom töltéseloszlása megváltozik  $\rightarrow$  nő az elektronegativitás  $\rightarrow$  jobb akceptor lesz  $\rightarrow$  víz-klaszterek kialakulása, H-kötések láncolata fehérjékben

Weinhold, F. (1997) Nature of H-bonding in clusters, liquids and enzymes. J.Mol.Struct. 398, 181

## Hidrofób kölcsönhatás

### biológiai makromolekulák belső szerkezetében igen jelentős



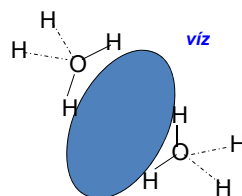
foszfogllicerát kináz enzim víz-dobozban

loncsatorna-fehérje sejtmembránba ágyazva

Az apoláros szénhidrogén-láncok egymás felé fordulva a víz-molekulákkal való kölcsönhatásokat csökkentik - hidrofób effektus

## Hidrofób kölcsönhatás – termodinamikai értelmezés

elv: szénhidrogének és víz kölcsönhatása energia-befektetést igényel



**Jellegzetes hőmérséklet-hatás**  
**Magas T**  $\rightarrow$  diszperziós kh. erősödik  
víz-orientáció gyengül  
 $\Delta S_{szegr} \sim \Delta S_{oldott}$ , de  $\Delta H < 0$   
 $\Rightarrow \Delta G = \Delta G_{szegr} - \Delta G_{oldott} < 0$

magas hőmérséklet: „H-driven”

**Alacsony T (RT):** A víz molekulák rendezett szerkezetet alakítanak ki egymással az apoláros molekula felületénél  $\rightarrow$  S csökken, de szegregációnál kevésbé,  $\Delta H \sim 0$   
 $\Delta G = \Delta H - T\Delta S = \Delta G_{szegr} - \Delta G_{oldott} < 0$

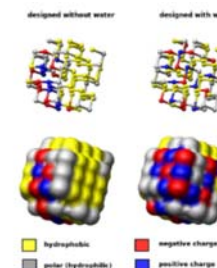
A szegregált és az elkeveredett állapot közötti különbség: szegregált állapotban a rendezésből eredő entrópia-változás kisebb

alacsony hőmérséklet: „S-driven”

Dill, K.A. (1990) Dominant forces in protein folding. Biochemistry 29, 7133

## Hidratációs erők

**Makromolekulák felületi töltései kölcsönhatnak víz-molekulákkal.**  
Molekula – molekula kölcsönhatáshoz a kötött vízmolekulákat le kell választani.  
A kötött víz-molekulák helyettesítése nagy energia-befektetést igényel. Rövid távú kh.  
 $r_{hydr} \sim 0.1 r_{el.sztat}$



**Különösen jelentős: fehérjéknél lipid membrán-felületeknél**

Abeln, S., Frenkel, D. (2011) Accounting for protein-solvent contacts facilitates design of non-aggregating lattice proteins. Biophysical Journal, 100, 693

## $\pi$ elektron – kation kölcsönhatások

töltés – kvadrupól (két dipól)  
és  
töltés – indukált dipól jelleg

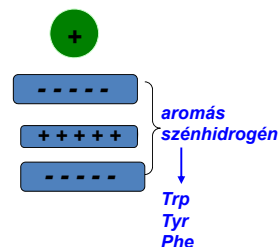
$$E_{kh} \approx -\frac{1}{r^3}$$

Vizes közeg kevésbé csökkenti mint a Cb-kh energiáját

$$E \xrightarrow{\text{víz}} 0.5 E$$

$$E_{Cb} \xrightarrow{\text{víz}} 0.05 E_{Cb}$$

$$\text{de } E \sim 0.25 E_{Cb}$$



Gallivan, J.P., Dougherty, D.A. (1999) Cation- $\pi$  interactions in structural biology. PNAS 96, 9459  
(2000) JACS 122, 870

## Kovalens (atomi/kémiai) kötések energetikai leírása

Harmonikus potenciállal közelítik a kötés egyensúlyi paramétereit közelében:

Harmonikus rezgés a kötés mentén

$$E_{kov} = \frac{1}{2} \phi (x - x_0)^2$$

egyensúlyi kötéstávolság

$$f = \sqrt{\frac{\phi}{m}}$$

kötéserősség

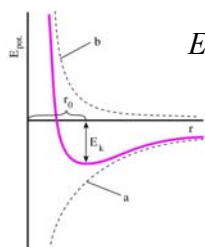
mérése IR spektroszkópiával :  $f \rightarrow \phi$

C – C kötés nyújtása :  $\phi = 275 \times 10^3 \text{ kJ/mol}(\text{nm})^2$   
pl. 0.01 nm nyújtás  $\rightarrow E > 10 \text{ RT}$

Hasonló harmonikus potenciálok a kötés – szögek függvényében is.

$\rightarrow$  kötések körüli elfordulások energiája  $\sim \text{RT}$

## Eddig vonzó kölcsönhatások Kötések kialakulása: szterikus gátlás mellett



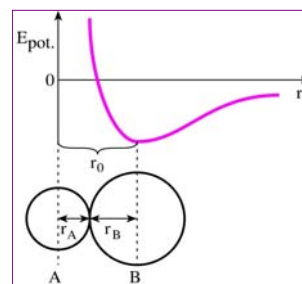
$$E_{pot} = \frac{B}{r^m} \quad \text{taszítás}$$

$$m > n$$

$$E_{pot} = -\frac{A}{r^n} \quad \text{vonzás}$$

$r$  = kölcsönható részecskék távolsága  
 $r_0$  = egyensúlyi kötéstávolság  
 $E_k$  = kötési energia

A kötéstávolság ( $r_0 = r_A + r_B$ ) és kötési energia  $E_k$  a kölcsönhatási energiafüggvények konkrét függvény-alakjától függ (  $a$  és  $b$  )



Atomi rádiuszok  
értelmezése

## Atomi rádiuszok különböző kölcsönhatásokban

Elem	Rendszám	Van der Waals sugár (nm)	Kovalens sugár (nm)	Ionsugár (nm)	Ion
H	1	0,120	0,037	–	H <sup>+</sup>
C	6	0,170	0,077	0,029	C <sup>+</sup>
N	7	0,155	0,075	0,025	N <sup>+</sup>
O	8	0,152	0,073	0,140	O <sup>2-</sup>
F	9	0,147	0,071	0,117	F <sup>-</sup>
P	15	0,180	0,106	0,058	P <sup>3+</sup>
S	16	0,180	0,102	0,184	S <sup>2-</sup>

**Szterikus gátlás a Pauli elv alapján:**

**Lennard – Jones potenciál**

A **taszító** potenciált az elektronfelhők átlapolása okozza –  
rövid hatótávolságú kölcsönhatás

A **vonzó** kölcsönhatást a diszperziós/van der Waals potenciál adja:

$$E_{L-J} = 4E_0 \left( \left( \frac{r_0}{r} \right)^{12} - \left( \frac{r_0}{r} \right)^6 \right)$$

Kötési energia

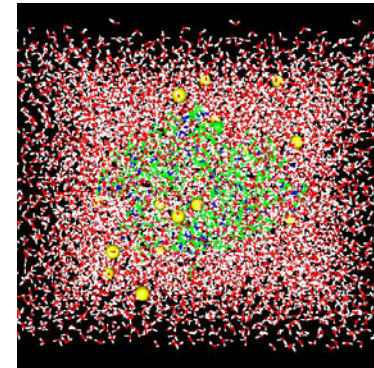
A makromolekulák szerkezete és komplex-képzése a  
környezeti molekulákkal való kölcsönhatás jelenlétében  
energia-minimum-állapotot jelent

Zöld: fehérje

Sárga: ionok

Piros-fehér:  
vízmolekulák

44 kDa  
tormaperoxidáz  
enzim víz-ion  
környezetben

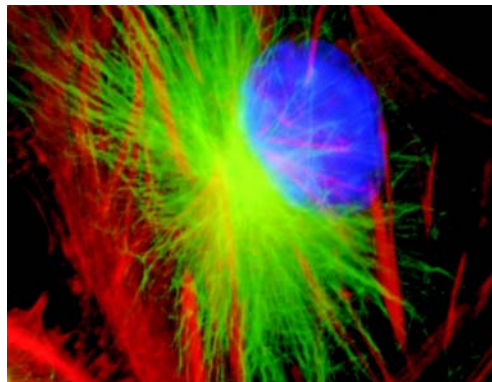


**További szerveződés sejtes szinten**

– „molecular crowding”

Piros: aktin  
filamentumok

Kék:sejtmag



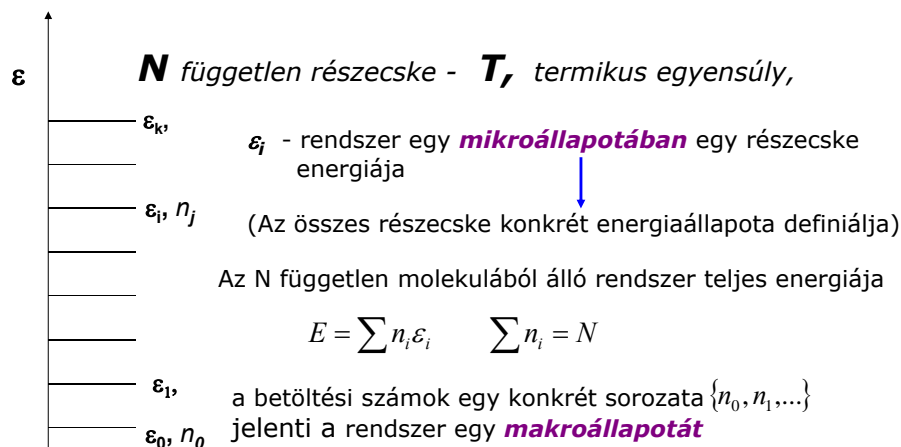
Zöld: microtubulusok

A biológiai folyamatokban az energia-minimum-elvek  
statisztikus jelleggel érvényesülnek.

Kötések folyamatosan felszakadnak és újraépülnek,  
a kötéserősségek hierarchiája alapján

„szerkezeti dinamika”

## Boltzmann eloszlás



## Boltzmann eloszlás

$$p_i = \frac{e^{-\frac{\epsilon_i}{kT}}}{Z}$$

**Boltzmann eloszlás** – fontos összefüggések

Annak valószínűsége, hogy adott  $\epsilon_i$  energiájú állapot a rendszerben megvalósul

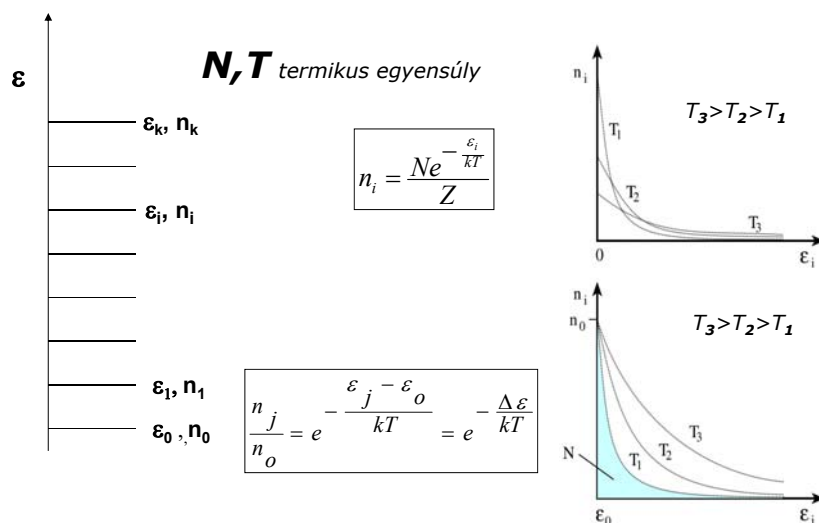
$$Z = \sum_i e^{-\frac{\epsilon_i}{kT}} \quad \text{állapotösszeg}$$

$$n_i = \frac{N e^{-\frac{\epsilon_i}{kT}}}{Z}$$

$$\frac{n_i}{n_0} = e^{-\frac{\epsilon_i - \epsilon_0}{kT}} = e^{-\frac{\Delta \epsilon}{kT}} \quad \text{Boltzmann faktor}$$

Két energiaállapot relatív betöltöttsége

## Boltzmann eloszlás – összhangban a tapasztalattal

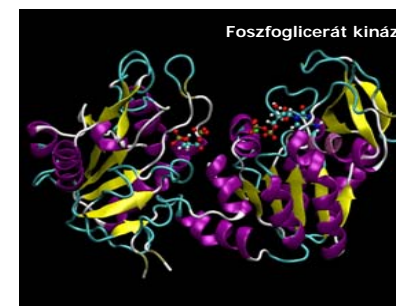


Mit értünk a biológiai anyag „szerkezetén”?

Pl. makromolekuláris **konformáció** ?

Energia-minimum

igen sokféle kölcsönhatás



Röntgenkristallográfia  
NMR

A konformáció sok „mikroállapot” időbeli és térbeli eredője

**Hőmérsékletre érzékeny**

## Molekuláris/makromolekuláris szerkezetet kialakító kölcsönhatások

$E_k \sim$  **elsődleges kötések** : kovalens  
ionos  
fémcs

2 – 6

eV/kötés

$E_k \sim$  **másodlagos kötések**

H-híd 0.1 - néhányszor x **0.1**  
Hidrofób kölcsönhatás ~ **0.1**

elektronvolt  
1 eV= 23 kcal/mole ~  
~ 100 kJ/mole

van der Waals dipól – ponttöltés ~ **0.1-0.2**  
dipól – dipól ~ **0.02**  
dipól– indukált dipól ~ **0.01**  
időleges dipól ~ **0.02**  
(diszperziós)

## Szerkezeti rend testhőmérsékleten $T=310\text{ K}$

Kérdés: van-e olyan kötés a szerkezetben, ahol az energiaállapot a kötött állapothoz képest éppen a kötési energiával magasabb?

többlet-energiával bíró  
kötések száma

$$\frac{n}{n_{\text{kötött}}} = e^{-\frac{E_k}{kT}} \approx \frac{n}{N}$$

$kT \sim 0.027\text{ eV}$   
 $RT \sim 2.6\text{ kJ/mól}$

$T=310\text{ K}$ ,  $k=1.38 \times 10^{-23}\text{ J/K}$  Boltzmann állandó

$$kT \longleftrightarrow E_k$$

## Szerkezeti rend testhőmérsékleten $T=310\text{ K}$

Kérdés: van-e olyan kötés a szerkezetben, ahol az energiaállapot a kötött állapothoz képest éppen a kötési energiával magasabb?

többlet-energiával bíró  
kötések száma

$$\frac{n}{n_{\text{kötött}}} = e^{-\frac{E_k}{kT}} \approx \frac{n}{N}$$

$kT \sim 0.027\text{ eV}$   
 $RT \sim 2.6\text{ kJ/mól}$

$T=310\text{ K}$ ,  $k=1.38 \times 10^{-23}\text{ J/K}$  Boltzmann állandó

$$kT \longleftrightarrow E_k$$

## Szerkezeti rend testhőmérsékleten $T=310\text{ K}$

$$0.027\text{ eV} \longleftrightarrow E_k$$

Másodlagos kötések

**H-hidak**

pl.  $E_k = 0.1\text{ eV}$  (1-7 kcal / mole)

$$\frac{n}{N} \approx e^{-\frac{0.1\text{ eV}}{0.027\text{ eV}}} \approx e^{-3.7} = 2.46 \times 10^{-2} \approx 2.5\%$$

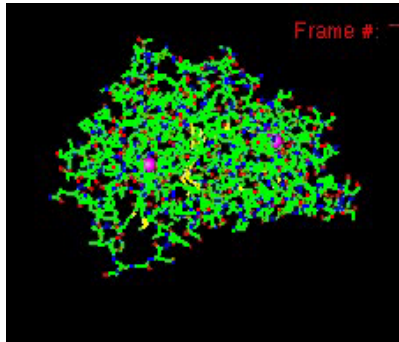
**Hidrofób kölcsönhatások,  
van der Waals kölcsönhatások**

$$E_k \xrightarrow{\text{elsődleges} \rightarrow \text{van der Waals/diszperziós}} kT$$

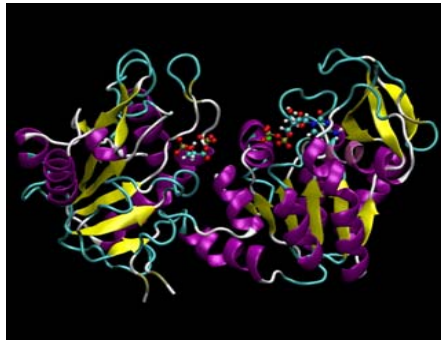
Termikus okokból elsődleges kötések  
nem szakadnak fel testhőmérsékleten

**A másodlagos kötések jelentős számban  
felszakadtak testhőmérsékleten  $\longrightarrow$  szerkezeti dinamika**

*A szerkezeti dinamika alapvetően fontos szerepet kap a biológiai makromolekulák funkcionális kölcsönhatásaiban*



**tormaperoxidáz enzim**  
nanosecundum-os időtartomány



**foszfoglicerát kináz enzim**  
millisecundum-os időtartomány