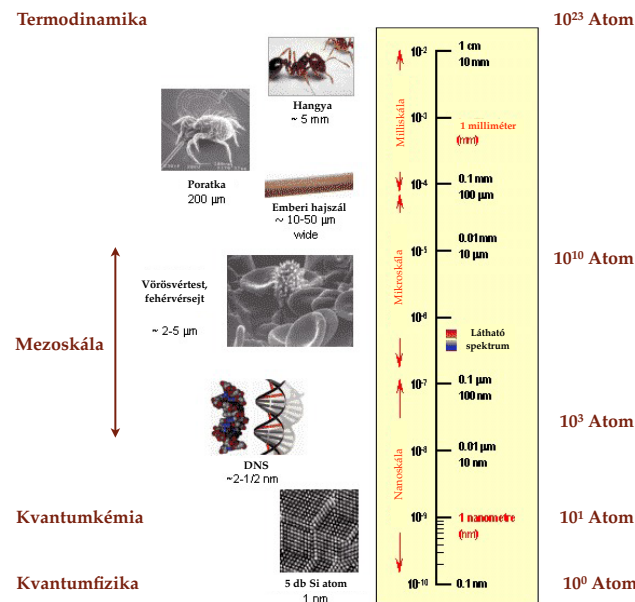


Biomolekuláris szerkezet

Kellermayer Miklós

Miért érdekes a szerkezet...?



Biomolekuláris szerkezet

- Diffrakció, interferencia
- Röntgen diffrakció, röntgen krisztallográfia
- Diffrakció-limitált mikroszkópia
- A feloldási határ leküzdése
- Polarizáció; CD spektroszkópia
- Tömegspektrometria

A szerkezetet az anyag elektronmágneses hullámokkal való kölcsönhatásaival vizsgáljuk

Elektromágneses hullámok fontos paraméterei

Amplitudó (A) - Intenzitás $\sim A^2$

Periódusidő: egyetlen oszcilláció alatt eltelt idő ("T").

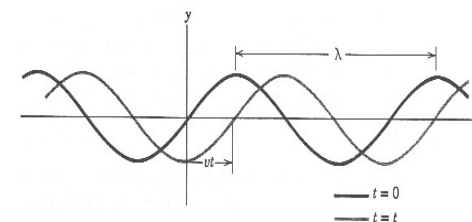
Frekvencia: periódusidő reciproka (f); egy s alatti oszcillációk száma.

Terjedési sebesség ("fázis-sebesség", "v", "c")

Hullámhossz (λ): egy periódusidő alatt megtett távolság

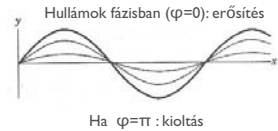
Fáziseltolódás (φ): hullámok ugyanazon pontjai közötti "távolság" (szögben vagy λ egységekben fejezzük ki)

$$\lambda = cT = \frac{c}{f}$$

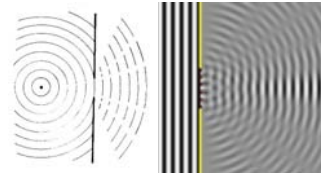


Diffrakció és interferencia

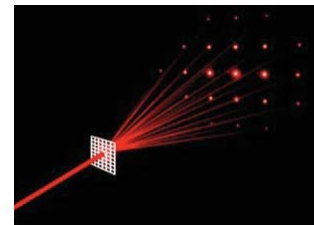
Hullámok kölcsönhatásai:
konstruktív és destruktív
interferencia (erősítés vagy kioltás)



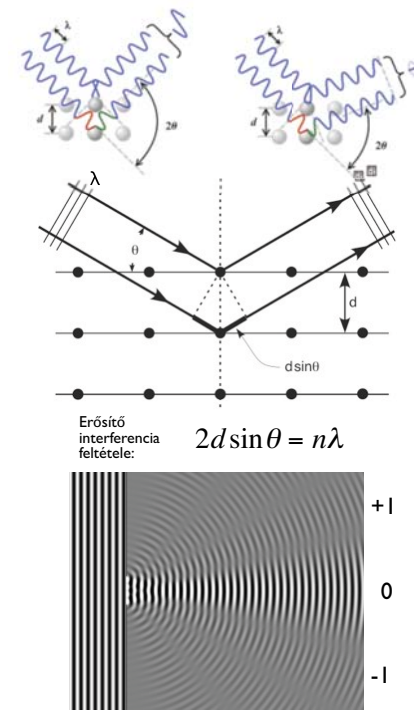
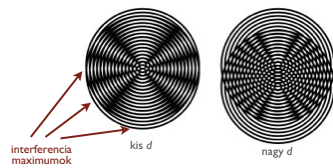
Diffrakció hullámhosszal összemérhető nagyságú rés esetén ($=d$ távolságra levő pontszerű rések, ahol $d \sim \lambda$)



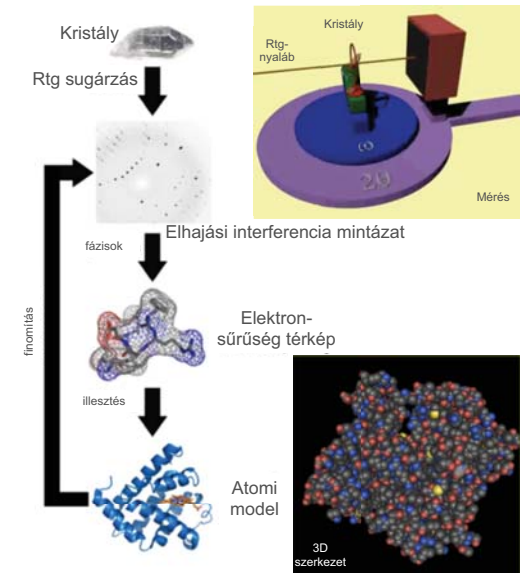
2-dimenziós optikai rács elhajlási interferenciaképe



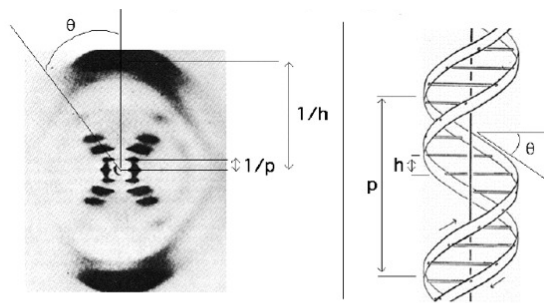
Kialakuló **interferencia mintázat** a pontszerű
sugárforrások közötti távolságtól (d) függ



Röntgen-krisztallográfia

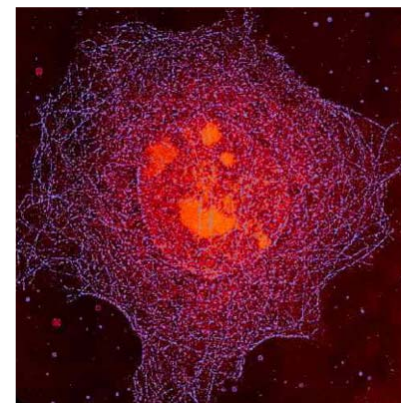


DNS szerkezet
megfejtése röntgen-
krisztallográfiával



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

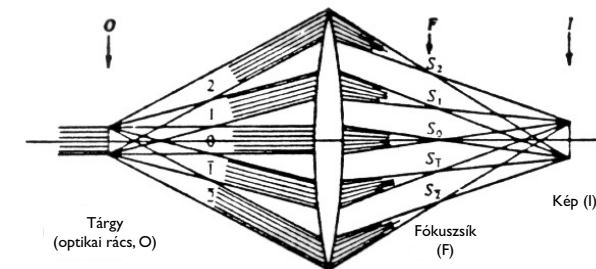
Képalkotás
röntgensugarakkal



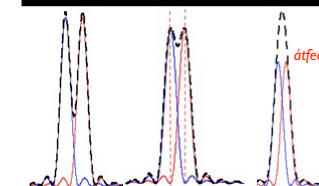
Speciális fókuszáló
mechanizmusra van
szükség

Képalkotás hullámokkal

Diffrakciólimitált képalkotás



Diffrakció miatt:
pontszerű tárgy képe
elhajlási korong (Airy
disk)



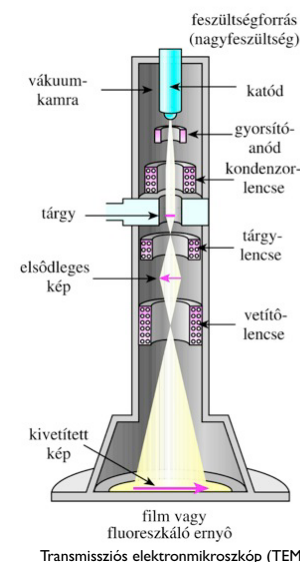
Legkisebb feloldott
távolság (Abbé):

$$d = \frac{0.61 \lambda}{n \sin \alpha}$$

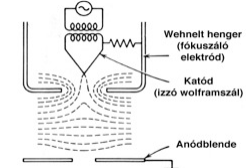
A feloldási határ leküzdése

- Az Abbé-féle képlet paramétereinek javítása (λ csökkentése, N.A. növelése)
- Feloldási probléma konvertálása pozicionálási problémává
- Nem diffrakció-limitált képalkotás

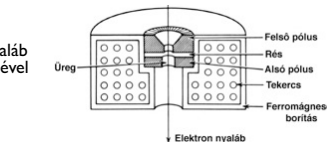
Képalkotás elektronhullámokkal: az elektronmikroszkóp



Sugárforrás:
elektronágyú



Fókuszálás: elektronnyaláb
kitérítése mágneslencsével



$$F = eBV_e \sin \alpha$$

F =elektronra ható erő; e =elektron töltése; B =mágneses térerő;
 V_e =elektron sebessége; α =optikai tengely és a mágneses tér iránya által bezárt szög

Feloldóképesség:
$$d = \frac{\lambda}{\alpha}$$

d =legkisebb feloldott távolság
 λ =„de Broglie” hullámhossz
 α =optikai tengely és a mágneses tér iránya által bezárt szög

de Broglie hullámhossz alapján elméleti $d \sim 0,005 \text{ nm}$ ($\approx 5 \text{ pm}$)

Felbontás és kontraszt az elektronmikroszkópban

A. Elméleti feloldóképesség:

módosított Abbé-képlet (kis α szögekre)

Elektronok sebessége (100000 km/s) alapján $d=0.005 \text{ nm}$

$$d = \frac{\lambda}{\alpha}$$

B. Valódi feloldóképesség: kis NA által limitált, $\sim 0.1 \text{ nm}$.

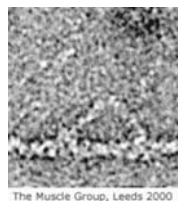
A kis NA miatt azonban „hatalmas” mélységélesség (több μm).

C. Biológiai gyakorlati feloldóképesség:

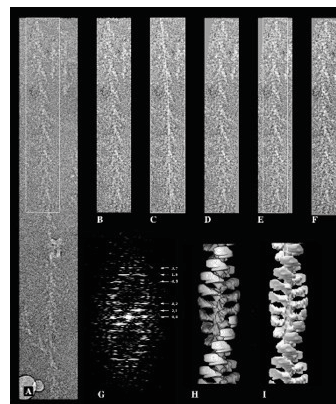
metszetvastagság 1/10-ed része.

D. Kontrasztképződés: elektronszóródás alapján

Kontrasztfokozás: elektrondenz festékek használata



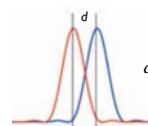
Krio-elektronmikroszkópia,
partikulum-analízis
képrekonstrukció



Szuperfelbontású mikroszkópia

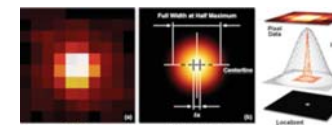
A feloldási problémát pozíciómeghatározási problémává alakítjuk

Feloldási probléma (Abbé-elv)

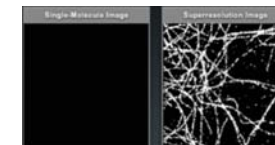


$$d = \frac{0.61\lambda}{n \sin \alpha}$$

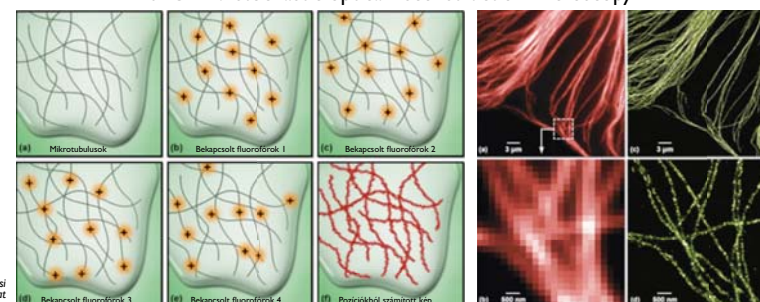
Pozíciómeghatározási probléma
(pontosság a fotonszámától függ)



„Stochasztikus” adatgyűjtés egyedi fluorofórokról



STORM: „stochastic optical reconstruction microscopy”

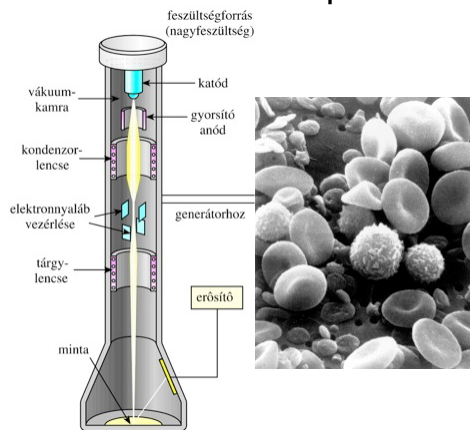


Adatgyűjtési
folyamat

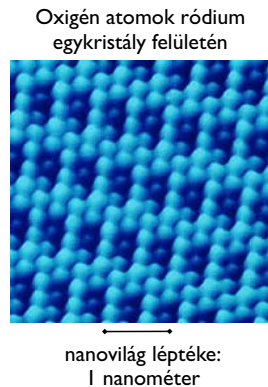
Mikrotubuláris
rendszer

Nem diffrakció-limitált mikroszkópiák

Pásztázó elektronmikroszkóp



Pásztázó tűszondás mikroszkópiák (SPM, AFM)



Polarizáció

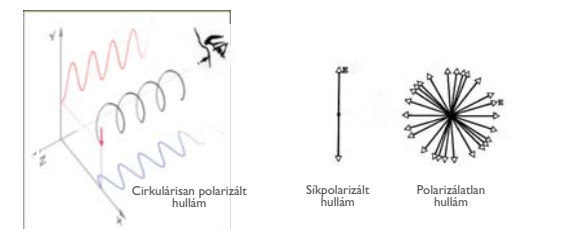
- **Polarizáció:** kitüntetett irányú rezgés
- **Kettős törés:** anizotróp terjedési sebesség
- Csak a **tranzverzális** hullámok polarizálhatók.



Elektromágneses hullámok polarizálása

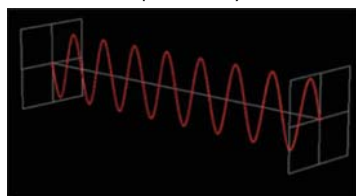


Polarizáció illusztrálása a terjedési irányból nézve:

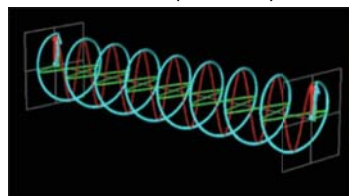


Polarizált fény kölcsönhatása az anyaggal

Síkpolárizált fény

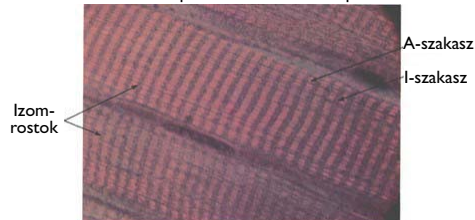


Cirkulárisan polarizált fény

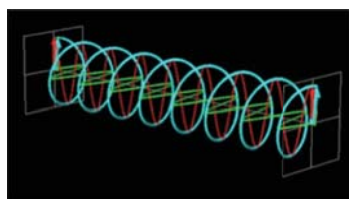


Jobbra forgó (D)

Izomrost polarizációs mikroszkópban



Optikai kettőtörés: a törésmutató (~fény terjedési sebessége) függ a síkpolárizált fény polarizációs síkjától.



Balra forgó (L)

Cirkuláris kettőtörés: a törésmutató (~fény terjedési sebessége) függ a cirkulárisan polarizált fény forgási irányától

Cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia

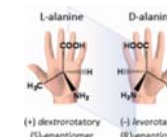
Elv: L/D cirkulárisan polarizált fény differenciált, hullámhossz-függő elnyelése

- A cirkulárisan polarizált fény elnyelődése függ a rotációs iránytól (L/D) ÉS
- A cirkulárisan polarizált fény elnyelődése függ a frekvenciától (hullámhossztól)

Dikroizmus ("kétszínűség"):

- 1.) Hullámhossz függvényében a fény áthalad vagy visszaverődik az anyag felületéről
- 2.) Különböző polarizációs állapotú fény különböző mértékben nyelődik el az anyagban.

Királis molekulák erős cirkuláris dikroizmust mutatnak

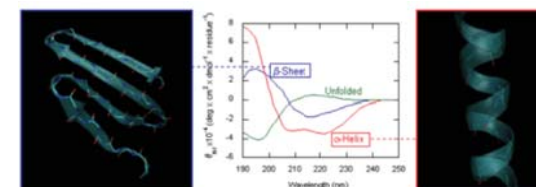


CD spektrum:

x-tengely: hullámhossz vagy frekvencia; **y-tengely:** "cirkuláris dikroizmus": az L és D cirkulárisan polarizált fényre vonatkozó moláris extinkciós együtthatók különbsége

$$\Delta A(\lambda) = A(\lambda)_{LCPL} - A(\lambda)_{RCPL}$$

λ : hullámhossz

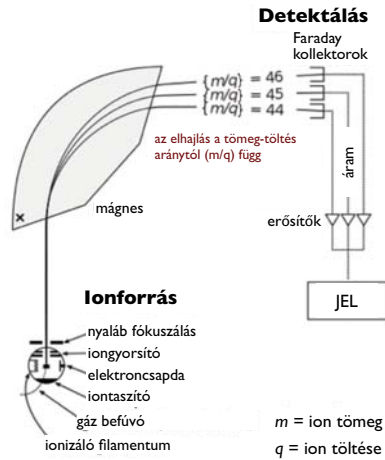


Tömegspektrometria

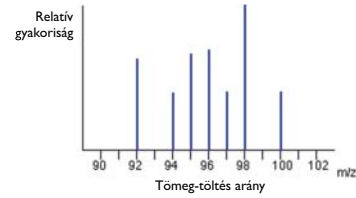
Tömegspektrometria - mass spectrometry (MS): a minta atomjai és molekulái tömegeinek eloszlását mérő analitikai módszer. A megmért spektrum a minta elemi vagy izotóp ujjlenyomata, amely a kémiai szerkezetre jellemző.

Lépések:

1. Ionizáció
2. Gyorsítás
3. Elhajlás
4. Detektálás



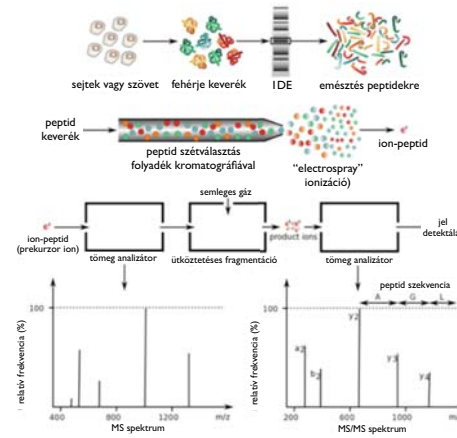
Eredmény: "Vonal" diagram



A spektrumot szerkezeti adatbázissal vetjük össze

Tömegspektrometriás alkalmazások

Fehérje analitika (proteomika)



Valós idejű szövetanalízis ("onkokés")

