

Elméleti és kísérletes módszerek lipidek és membránfehérjék tanulmányozására



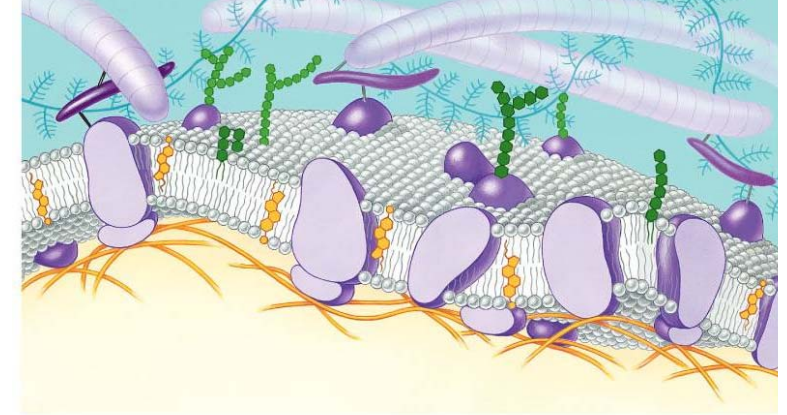
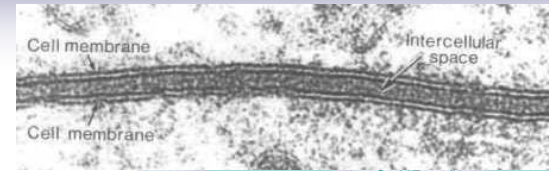
Hegedűs Tamás

tamas@hegelab.org

MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport
SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet



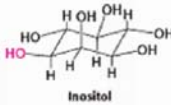
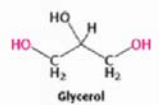
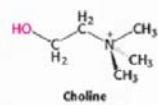
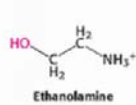
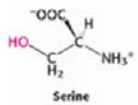
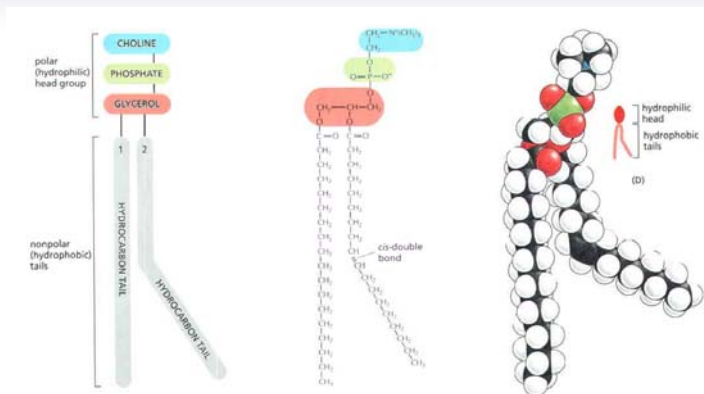
Membránok és membránfehérjék



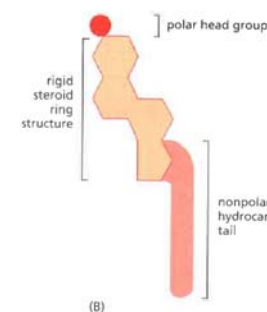
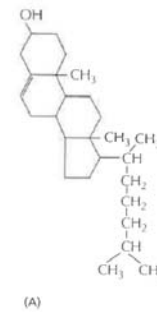
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Foszfolipidek

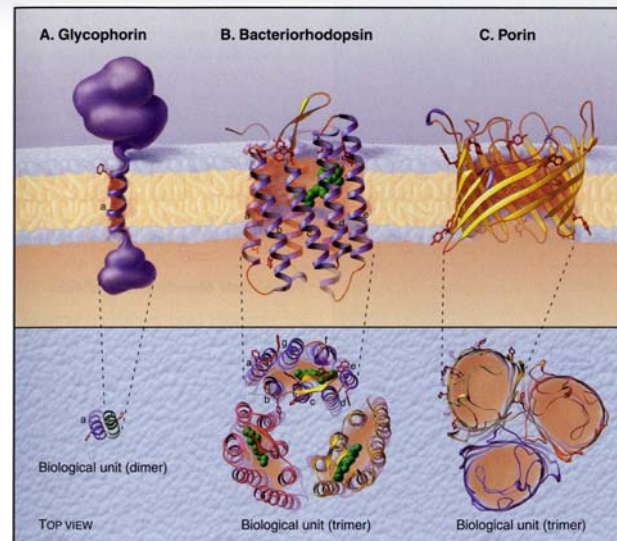
membrán-lipidek



Koleszterin - cholesterol



Transzmembrán fehérjék



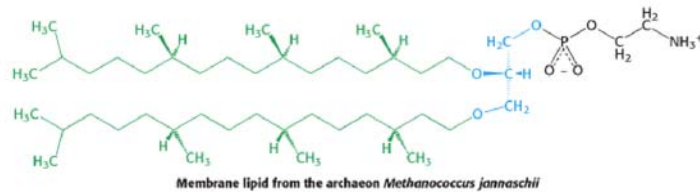
Biológiai membránok összetétele

Lipid composition of some biological membranes^a

Lipid	Percent of Total Composition in			
	Human erythrocyte plasma membrane	Human myelin	Beef heart mitochondria	<i>E. coli</i> cell membrane
Phosphatidic acid	1.5	0.5	0	0
Phosphatidylcholine	19	10	39	0
Phosphatidylethanolamine	18	20	27	65
Phosphatidylglycerol	0	0	0	18
Phosphatidylinositol	1	1	7	0
Phosphatidylserine	8.0	8.0	0.5	0
Sphingomyelin	17.5	8.5	0	0
Glycolipids	10	26	0	0
Cholesterol	25	26	3	0
Others	0	0	23.5	17

^aData from C. Tanford, *The Hydrophobic Effect* (New York: Wiley, 1973).

Eltérő organizmusok – eltérő membrán – Archaea

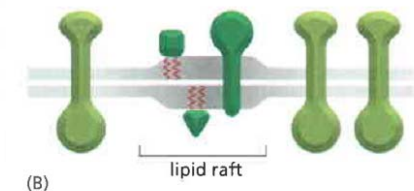
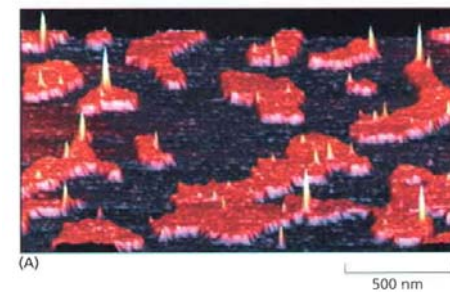


1. Éter kötés (nehezebben hidrolizálható)
2. Elágazások (nehezebben oxidálódik)
3. Glicerol szterokémiaiailag invertált

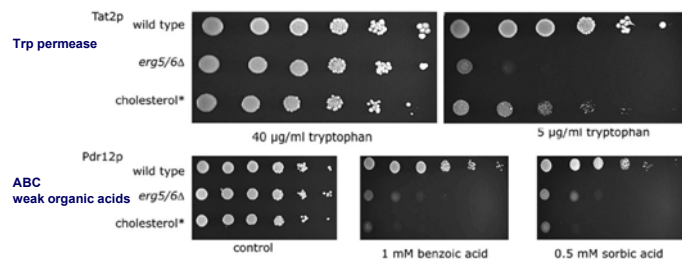
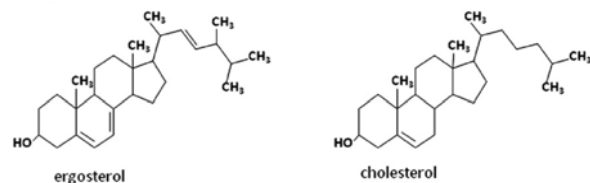


Membrán raft

- sphingolipides
- cholesterol

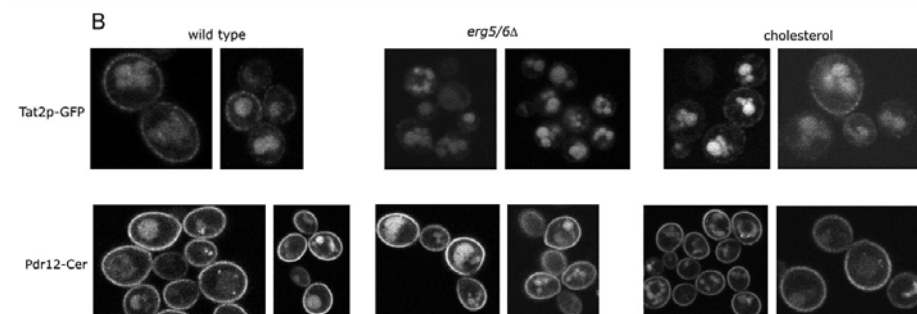


Eltérő organizmusok – eltérő membrán – élesztő



Souza, C.M., ... and H. Riezman (2011) *Metab. Eng.* 13, 555-569.

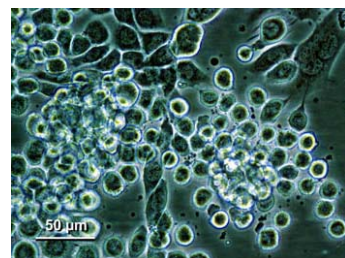
Lipidek kofaktor-szerepe fehérjék működésében



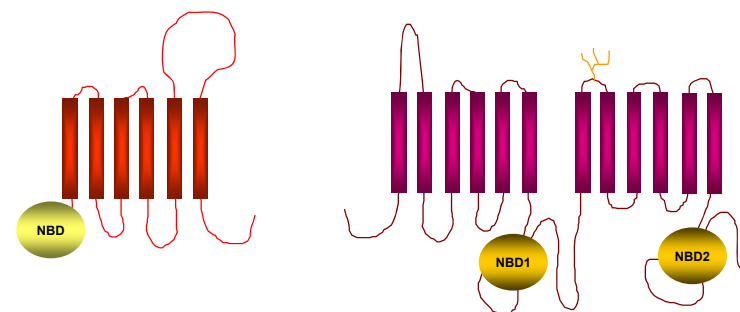
Eltérő organizmusok – eltérő membrán – rovarsejtek

***Spodoptera frugiperda* (pl. Sf9, Sf21 sejtvonalak)**

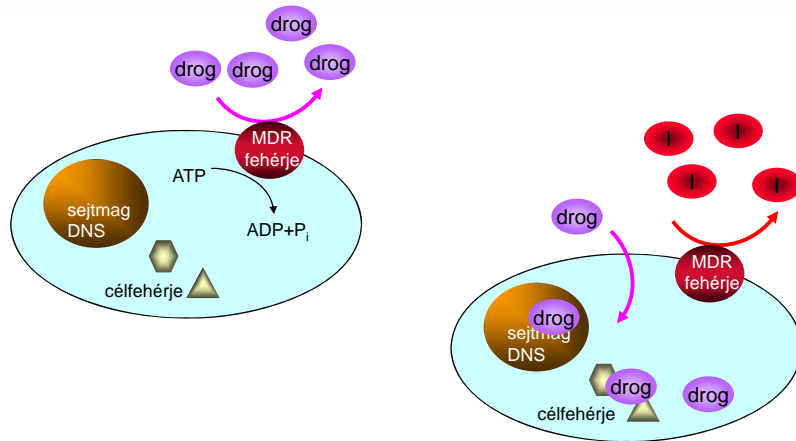
Baculo vírus



ATP Binding Cassette (ABC) fehérjék

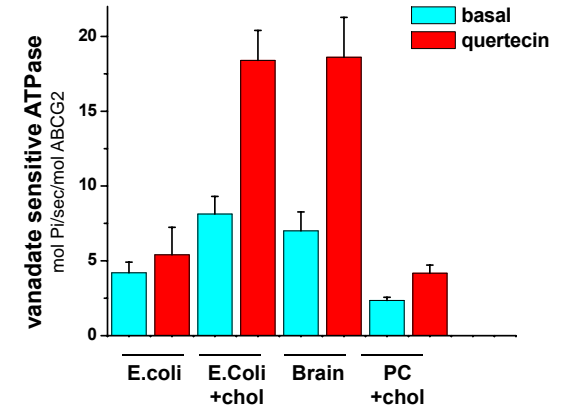
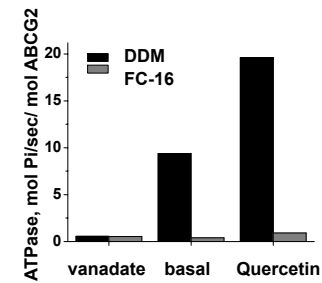
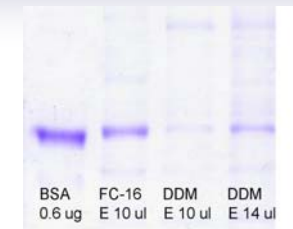


A multidrog-rezisztencia és felfüggesztése



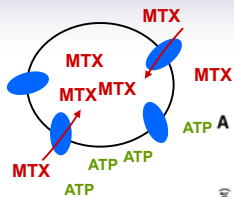
ABCG2 koleszterin-függő működése I.

membrán preparátum
fehérje tisztítás

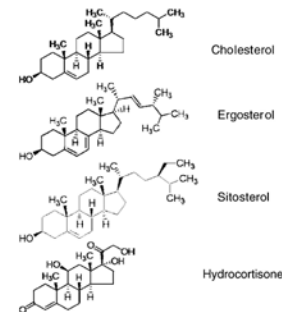
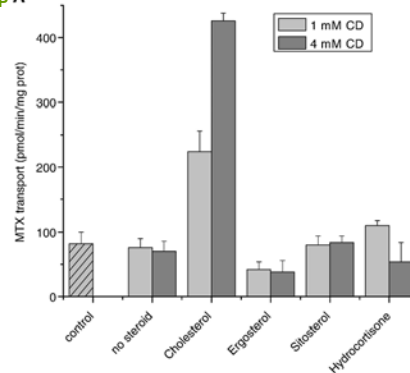


ABCG2 koleszterin-függő működése II.

vezikula

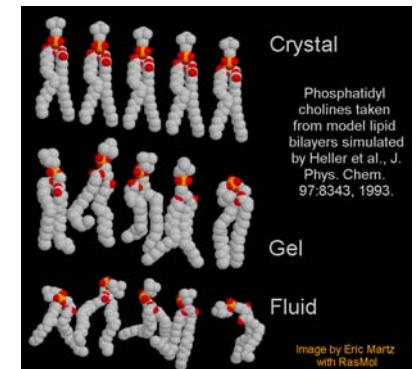
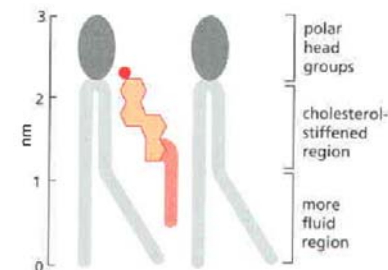
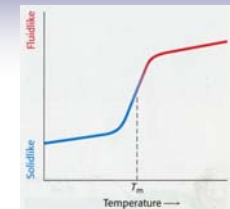


Á. Telbisz et al. / Biochimica et Biophysica Acta 1768 (2007) 2698–2713

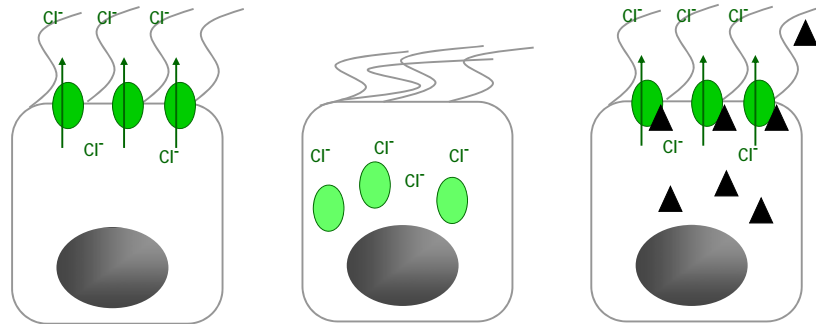


A membrán fluiditása, fázisátmenetei

- Hőmérséklet
 - Összetétel
- fázisátalakulás
- lánchossz
 - cisz-kötések
 - koleszterin

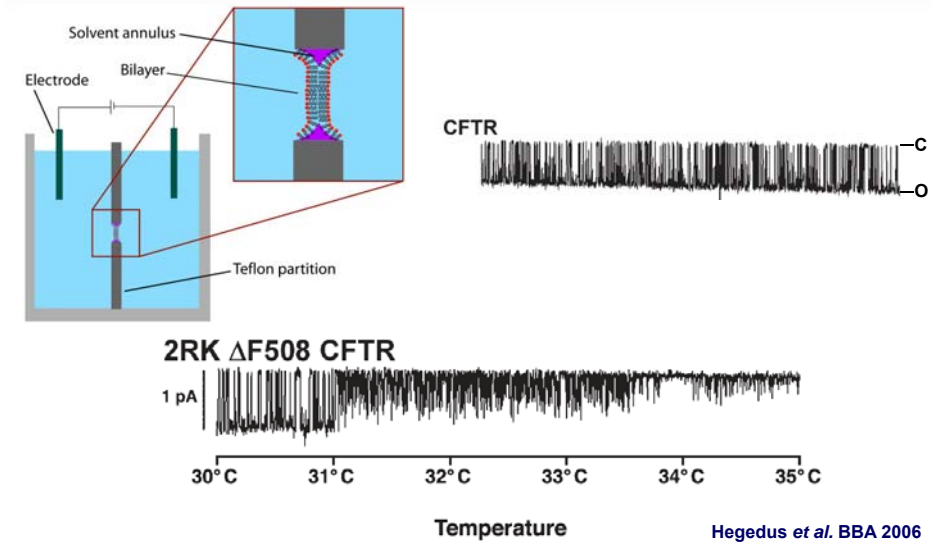


Cisztás fibrózis



CFTR működésének lipid és hőmérséklet függése

black membrane



Membránfehérjék nanodisc-ben

T. Kawai et al./FEBS Letters 585 (2011) 3533–3537

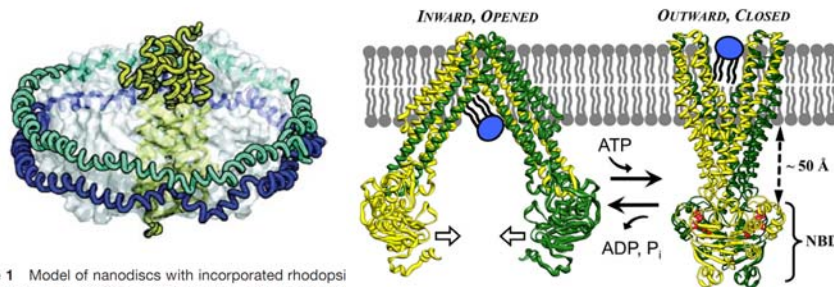
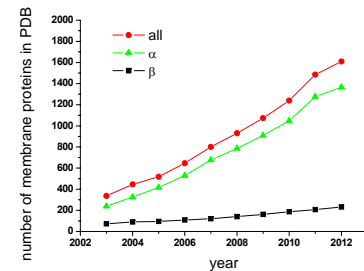
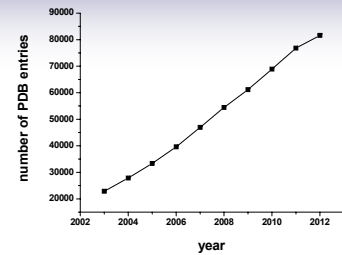
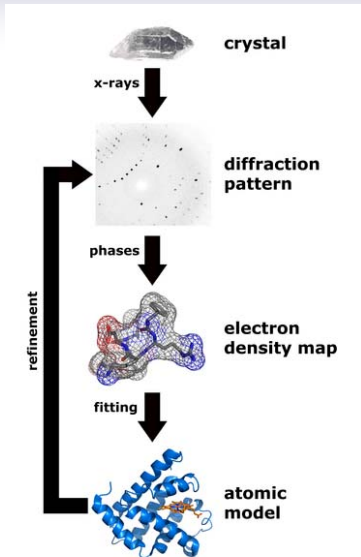


Figure 1 Model of nanodiscs with incorporated rhodopsin. Blue: membrane scaffold protein; gray: phospholipid bilayer, green: rhodopsin. The model was adapted from Nath et al. (2007a).

Lipid-összetétel – lokális működés szabályozás

	chol	PC	PE	PS	PI	PG	CL
plazmamembrán	30	18	11	9	4	0	0
Golgi-komplex	8	40	15	4	6	0	0
SER	10	50	21	0	7	0	2
RER	6	55	16	3	8	0	0
magmembrán	10	55	20	3	7	0	0
lizoszóma membr.	14	25	13	0	7	0	5
mitokondriális							
belső membrán	3	45	24	1	6	2	18
külső membrán	5	45	23	2	13	3	4

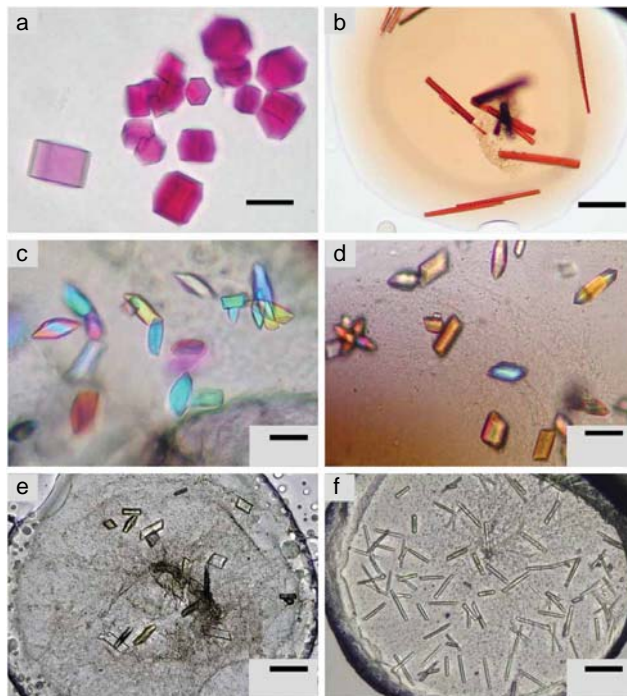
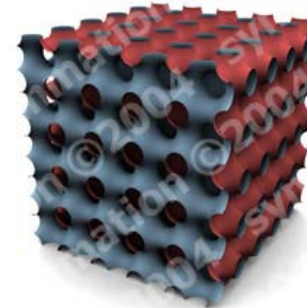
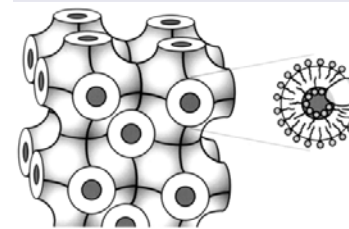
Szerkezet meghatározás – Röntgen krisztallográfia



pdbtm.enzim.hu, Tudsnády Gábor

Szerkezet meghatározás – cubic phase

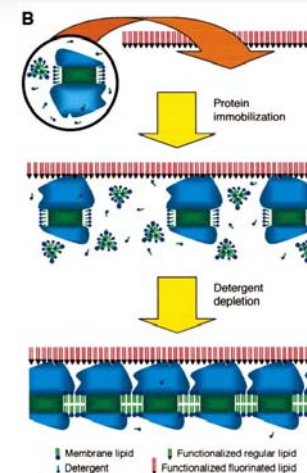
monoolein/water



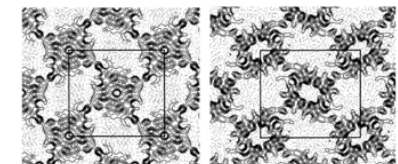
Crystals of membrane proteins growing in the lipidic mesophase.

- (a) Bacteriorhodopsin
- (b) light-harvesting complex II
- (c) adhesin/invasin OpcA
- (d) vitamin B12 transporter BtuB
- (e) human b2 adrenergic receptor-T4 lysozyme chimera
- (f) Carbohydrate transporter from *Pseudomonas*.

Szerkezet meghatározás – 2D kristály



2D kristály



Mai témák

- Kísérletes módszerek membránok modellezésére
- Elméleti módszerek membránok modellezésére

Szimulációk létjogosultsága

Atomi szintű információt adnak mozgásokról.

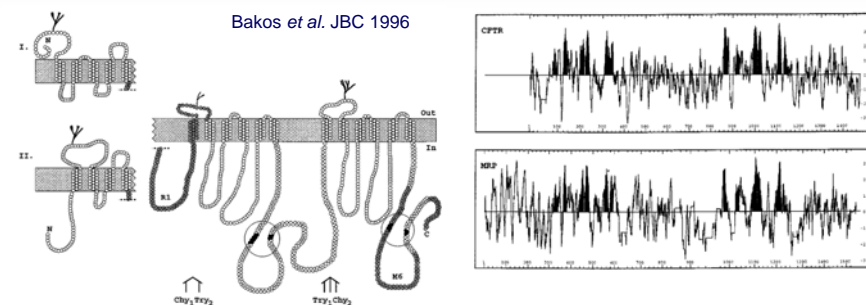
Kísérletes módszerek általában nem szolgáltatnak közvetlen információt az atomi szintű történésekről

PI. NMR és MD - igen

Szimulációk problémái

- A vizsgálni kíván membránfehérje térszerkezete nem ismert
- Általában a membránfehérjék membrán topológiája sem ismert
- Lipid-lipid, lipid-fehérje kölcsönhatások fizikai alapjai kevésbé ismertek
- Nagy rendszer, sok atom ➔ csak rövid szimulációk lehetségesek

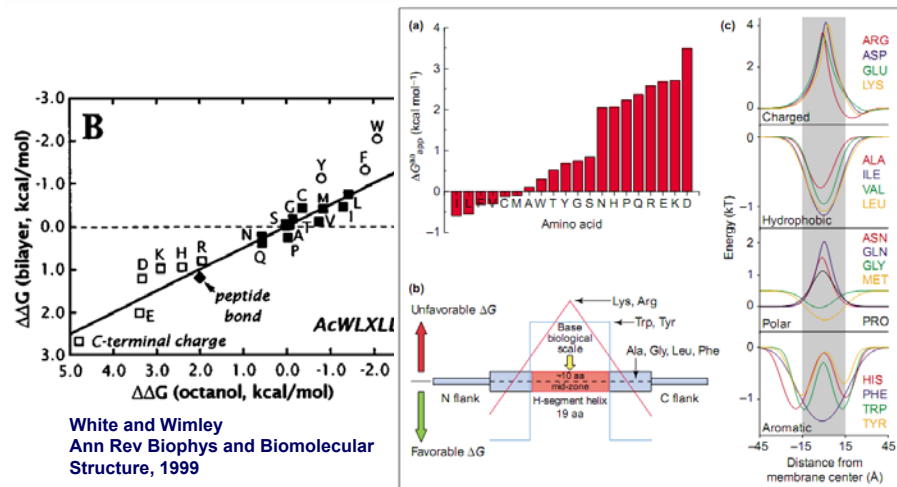
Membránfehérjék topológiája



www.expasy.org

Tusnády Gábor, www.enzim.hu

Aminosavak megoszlása

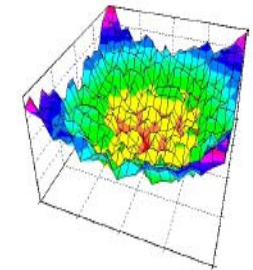


White and von Heijne, Current opinion in structural biology, 2005

Molekuláris dinamika

Molekuláris dinamika (MD)

- valós potenciálfelület
- mozgásegyenletek idő-lépésenkénti numerikus megoldása
- trajektória



- idő (CPU, valós)
- potenciál kiszámolása a szűk keresztmetszet
- numerikus integrálás hibája
- fs-os integrációs lépések
- oldószer (explicit/implicit)
- „boundary condition”



A „force field”

Baker (2007)

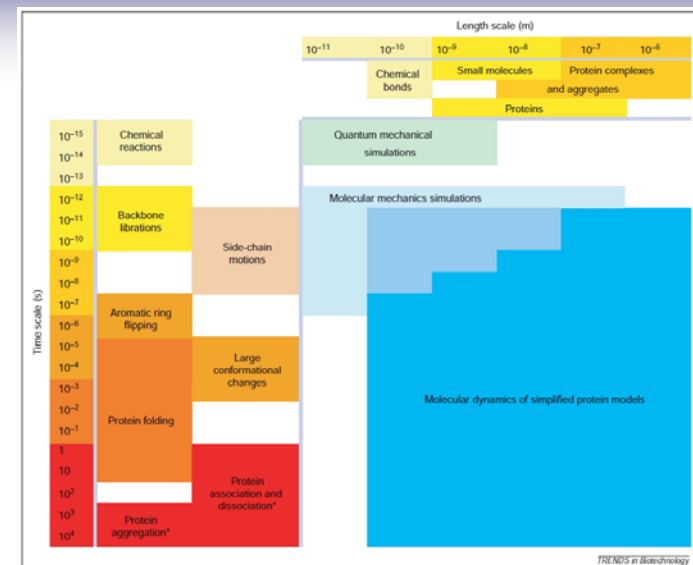
$$E_{\text{prot}} = W_{\text{rot}} E_{\text{rot}} + W_{\text{atr}} E_{\text{atr}} + W_{\text{rep}} E_{\text{rep}} + W_{\text{solv}} E_{\text{solv}} + W_{\text{pair}} E_{\text{pair}} + W_{\text{mbenv}} E_{\text{mbenv}} + W_{\text{hbond}} E_{\text{hbond}} - E_{\text{ref}}$$

$$E_{\text{mbenv}} = \sum_i^{\text{natom}} \Delta G_i^{\text{ref}}(z') \quad \Delta G_i^{\text{ref}}(z') = (1 - f(z')) * (\Delta G_i^{\text{ref, chex}} - \Delta G_i^{\text{ref, water}})$$

TABLE II. Atomic Contribution to the Solvation Free Energy in Water and Cyclohexane

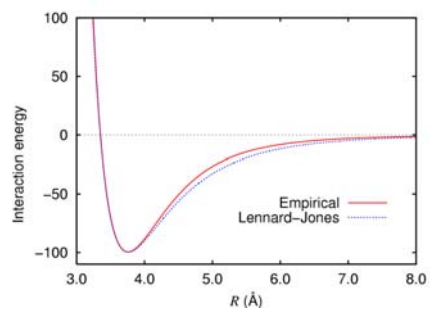
	Water	Chex		Water	Chex
CR	-0.890	-1.350	NH3	-20.000	-1.145
CH1E	-0.187	-0.645	NC2	-10.000	-0.200
CH2E	0.372	-0.720	N	-1.000	-1.145
CH3E	1.089	-0.665	OH1	-5.920	-0.960
CR1E	0.057	-0.410	O	-5.330	-1.270
NH1	-5.950	-1.145	OC	-10.000	-0.900
NR	-3.820	-1.630	S	-3.240	-1.780
NH2	-5.450	-1.145	SH1E	-2.050	-1.855

„Események” időskálája

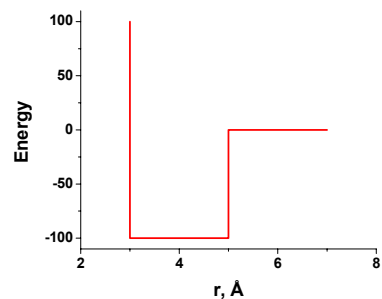


F. Ding and N.V. Dokholyan, TRENDS in Biotechnology, 23:450 (2005)

Diszkrét Molekuláris Dinamika (DMD)



wikipedia



Ding, F., Dokholyan, N. V. PLoS Comput Biol 2:e85

Egyszerűsített (Coarse Grain) modellek

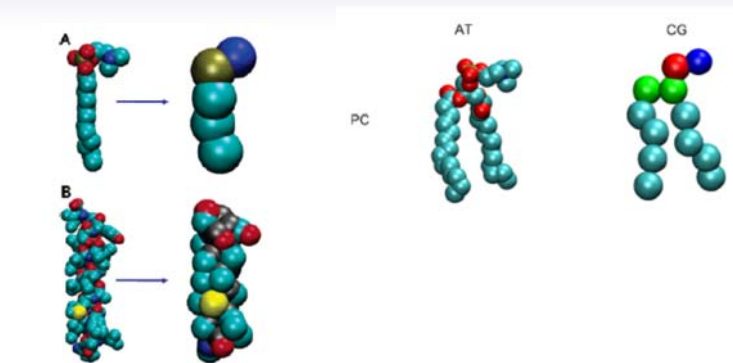


Figure 1. Atomistic (left-hand) and coarse-grained (right-hand) models compared for (A) a DPC molecule and (B) a GpA helix. Colors for atoms:

Sansom, Oxford University
Marrink, Groningen, MARTINI force field

Lipid struktúrák összeszerelődése

Langmuir 2010, 26(7), 4687–4692

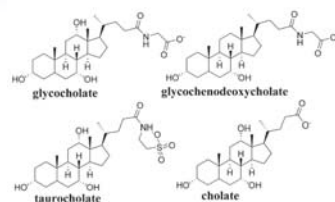
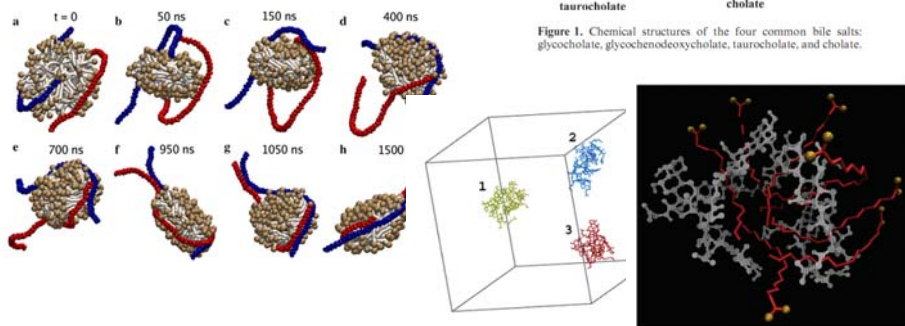


Figure 1. Chemical structures of the four common bile salts: glycocholate, glycochenodeoxycholate, taurocholate, and cholate.

A.Y. Shih et al. / Journal of Structural Biology 157 (2007) 579–592

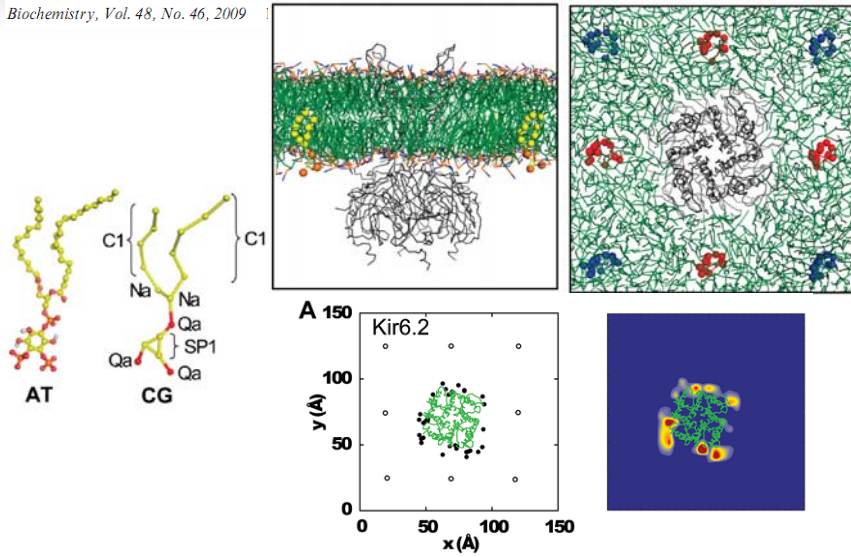


Kettősréteg felépülése a fehérje köré

Nagy méretű mozi

PIP2 kötődése Kir kálium csatornához

Biochemistry, Vol. 48, No. 46, 2009

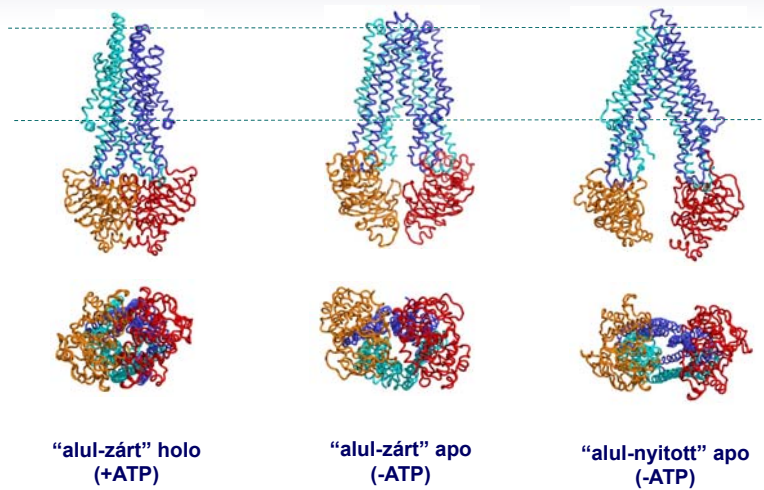


Fehérjék konformációinak stabilitása

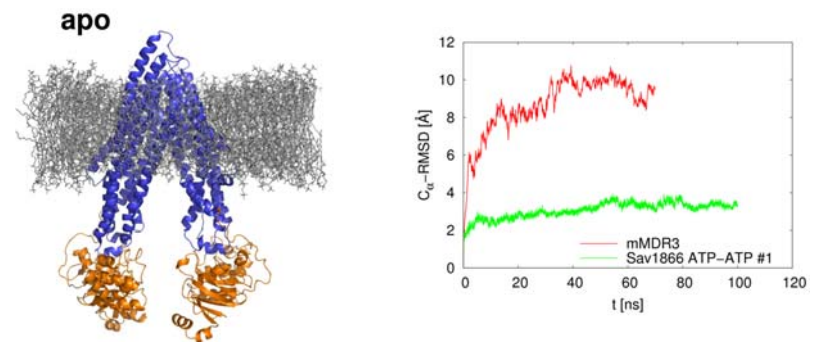
Eur Biophys J (2008) 37:403–409



ABC fehérjék konformációi

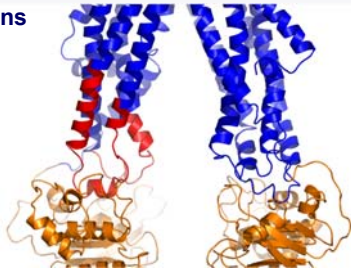


Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil

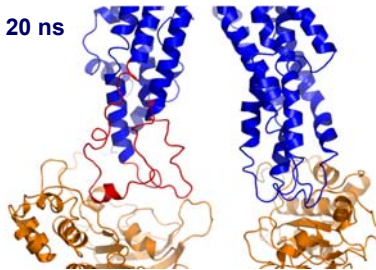


Az alul nyitott apo szerkezet nem stabil

t = 0 ns

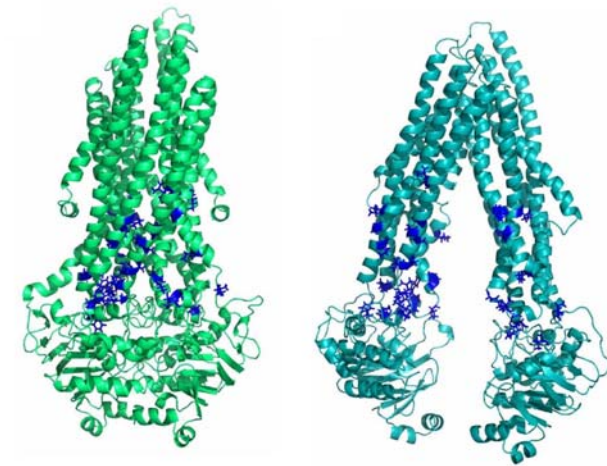


t = 20 ns



rendszer	megtartott hélix tartalom
Sav1866 ATP/ATP #1	90.04%
hMDR1 holo	91.84%
hMDR1 apo	64.30%
mMDR3	63.13%

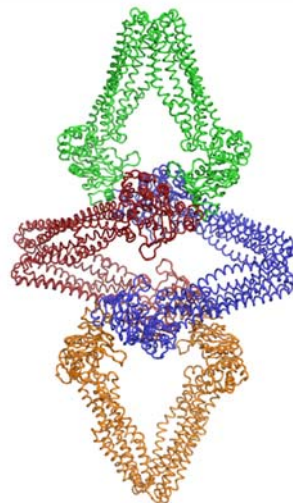
Hidrofób aminosavak kerülnek felszínre



Alul nyitott apo szerkezet elemi cellája

mMDR3, PDBID:3G5U

MsbA, PDBID:3B5W



Köszönetnyilvánítás

www.hegelab.org

Jakab Kristóf
Sarankó Hajnalka
Szöllősi Dániel
Tordai Hedvig
Tóth Attila

Erdős Gábor
Erdei Áron
Harmat Zita

Sarkadi Balázs

OVSZ, MTA TTK

Kellermayer Miklós

SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

KTIA_AIK_12-1-2012-0025

