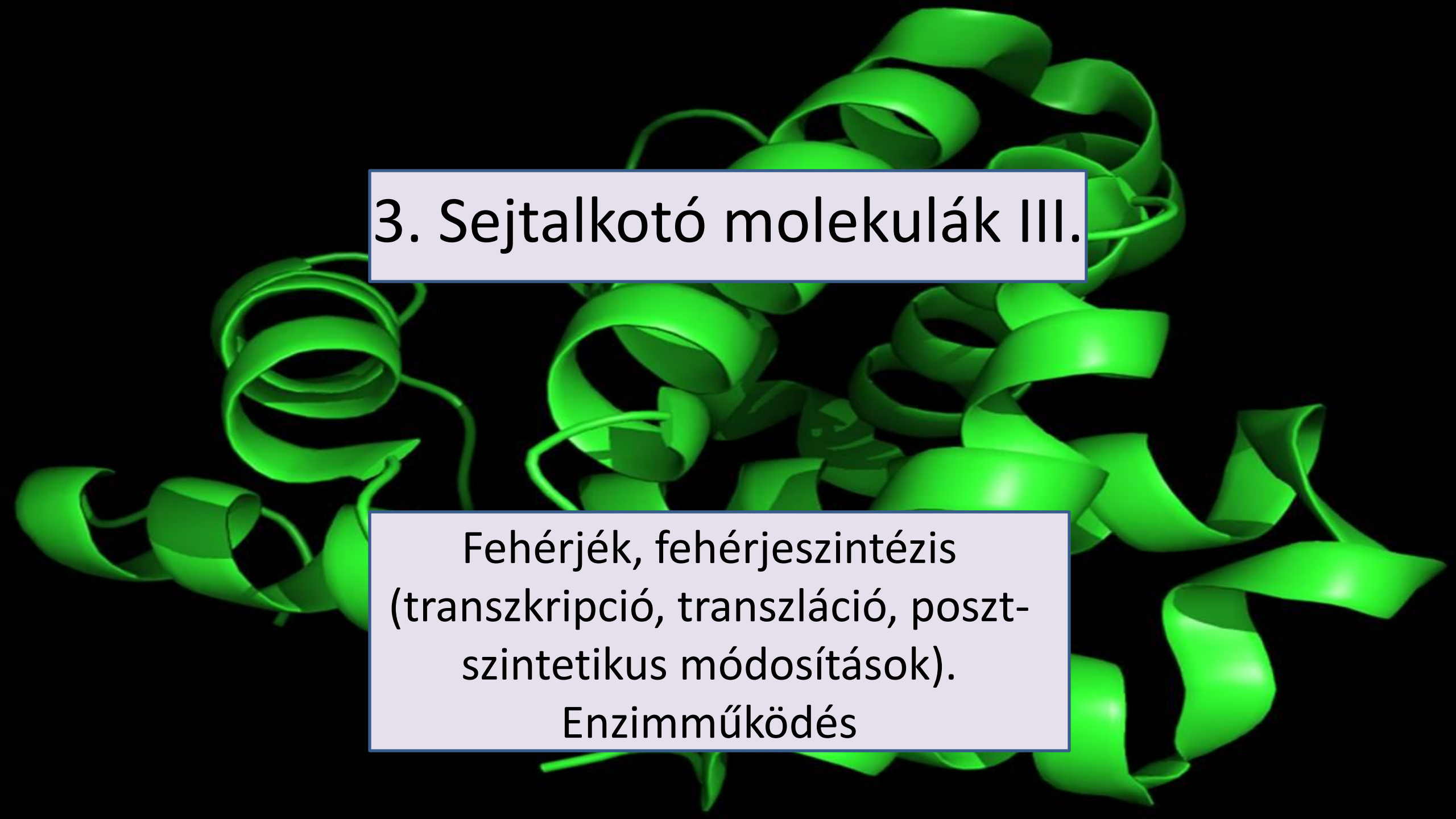




3. Sejtalkotó molekulák III.

Fehérjék, fehérjeszintézis
(transzkripció, transzláció, poszt-
szintetikus módosítások).

Enzimműködés

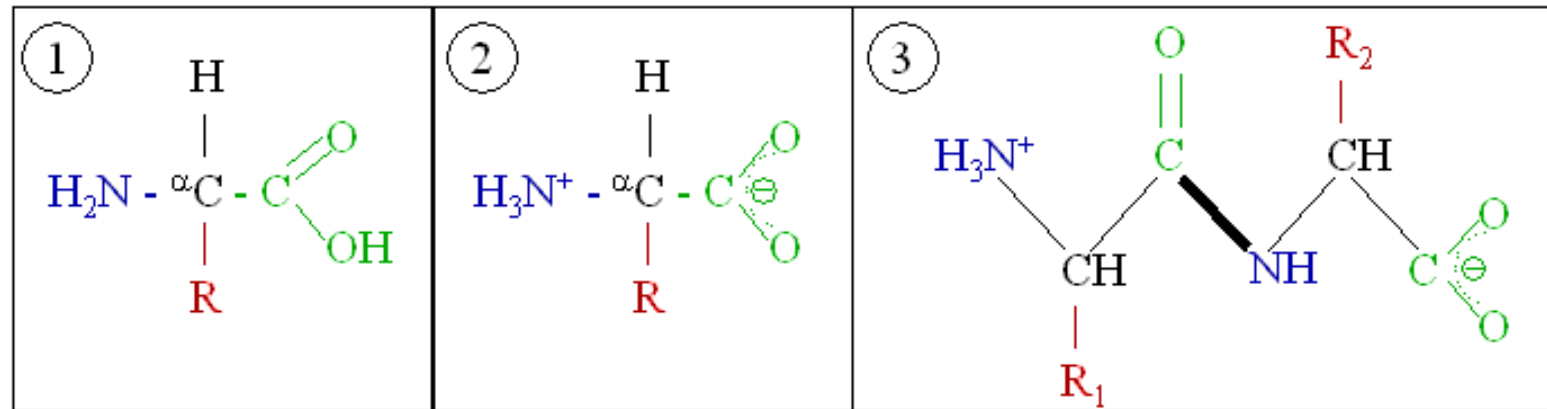
Fehérjék

- A genetikai információ egyik fő manifesztálódása
- Számos funkció (katalízis, transzport, váz, mozgás, érzékelés, felismerés, növekedés stb.)
- Aminosav építőegységekből felépülő polimer

Építőkövek: aminosavak

- L-aminosavak (α -amino-karbonsavak)
- 22 a DNS-ben kódolva (proteinogén aminosavak)
 - Szelenocisztein (eukariótákban)
 - Pirrolizin (archeák, prokarioták – metanogének)
- A 22 aminosav módosításával további, nem közvetlenül kódolt aminosavak: ornitin, homocisztein, norleucin stb.
- Non-proteinogén aminosavak
 - metabolitok, neurotranszmitterek (GABA) stb.

- L-konfiguráció (kivéve Gly)
- Ikerionos szerkezet (pH függő)
- Izoelektromos pont (az a pH ahol semleges a molekula)



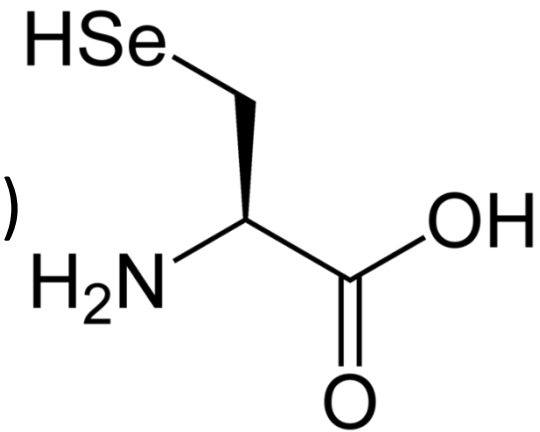
aminosavak

ikerionos szerkezet

21. és 22. aminosav

- Szelenocisztein (Sec, U, Se-Cys)

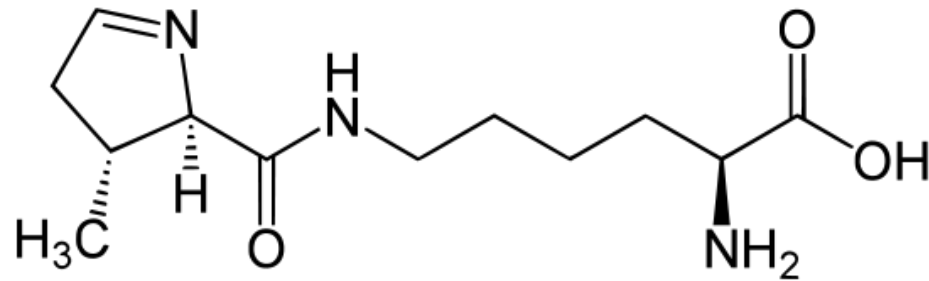
- Általában redox funkció (antioxidánsok)
- Szelenoproteinek – 25 az emberben
- Szelenoenzimek pl. glutathion peroxidáz
- PET imaging ^{73}Se
- Nagyfelbontású NMR ^{77}Se
- UGA (Opal – Stop kodon) - Se függő szabályozás



21. és 22. aminosav

- Pirrolizin

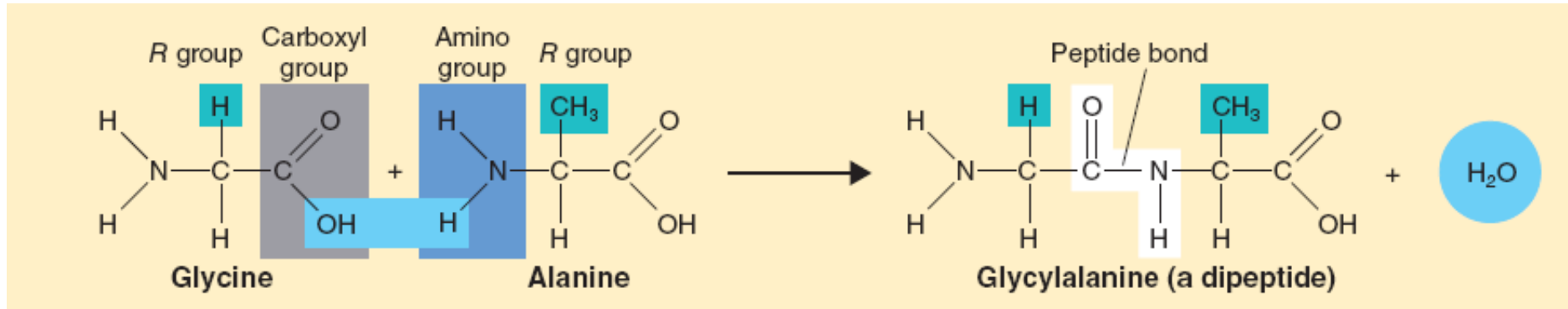
- Metanogén archea
- Metán metabolizmusban részt vevő enzimbek
- UAG (Amber – Stop kodon)
- Lehetőség nem természetes aminosavak kódolására (tRNA-aaRS pár)



Aminosavak

- Csoportosítás
 - Apoláris (Gly, Leu, Ile, Pro, Ala, Val)
 - Poláris (Cys, Thr, Met, Ser, Asn, Gln, Sec)
 - Savas (Asp, Glu)
 - Bázisos (Arg, Lys, His, Pyl)
 - Aromás (Phe, Trp, Tyr)
- Esszenciális aminosavak (az állati / emberi) szervezet nem képes előállítani
 - Met, Thr, Lys, Ile, Val, Leu, Phe, Trp, His

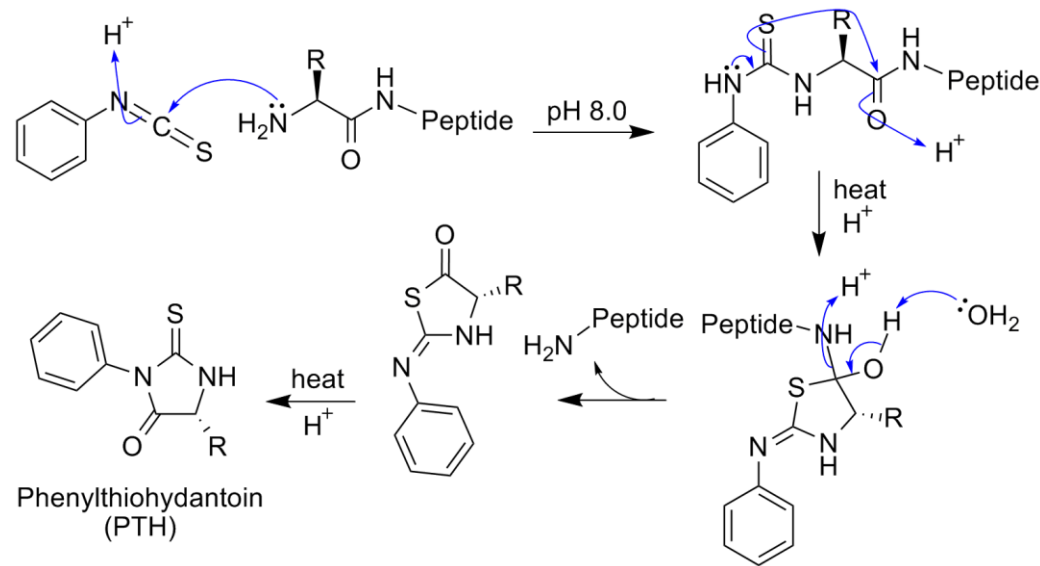
A peptidkötés



- Szabad NH_2 , COOH (NH_3^+ , COO^-)
- N-terminális, C-terminális
- N $\rightarrow$ C irány

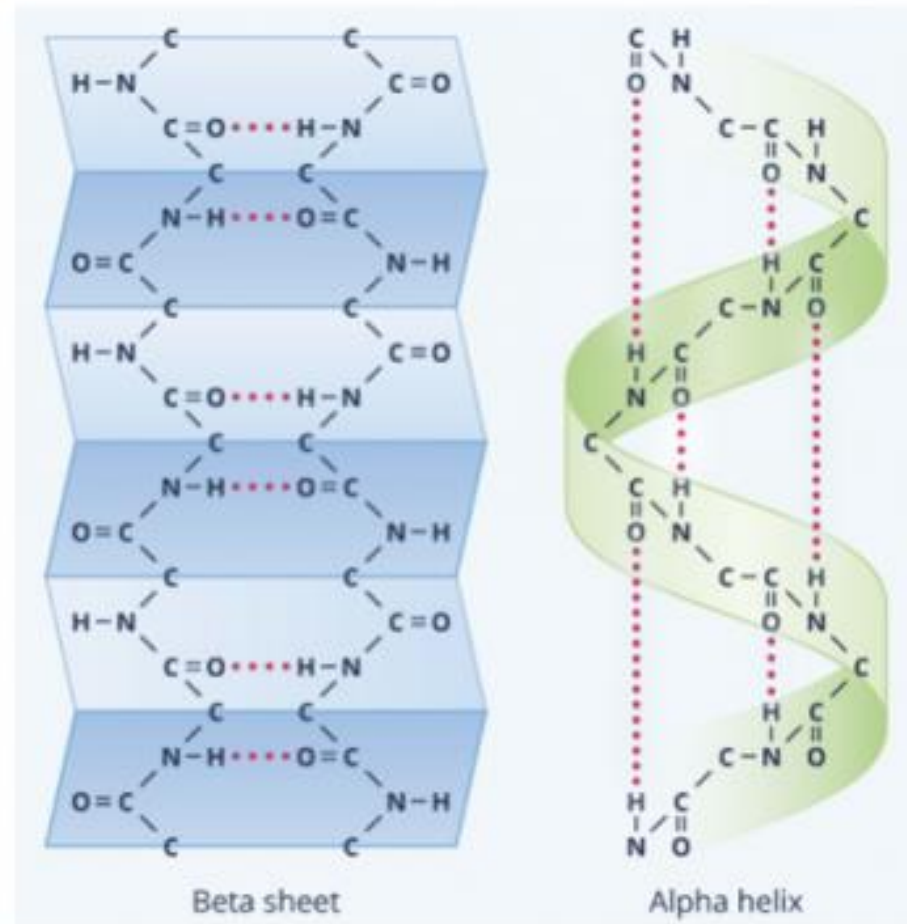
A peptidek / fehérjék szerkezete

- Elsődleges (primer) szerkezet: az aminosav sorrend /szekvencia
 - MS
 - **Edman lebontás** (darabolás endopeptidázokkal, fixálás pl. üvegen, utána N-terminális reakciója fenilizotiocianáttal, azonosítás pl. kromatográfiásan)



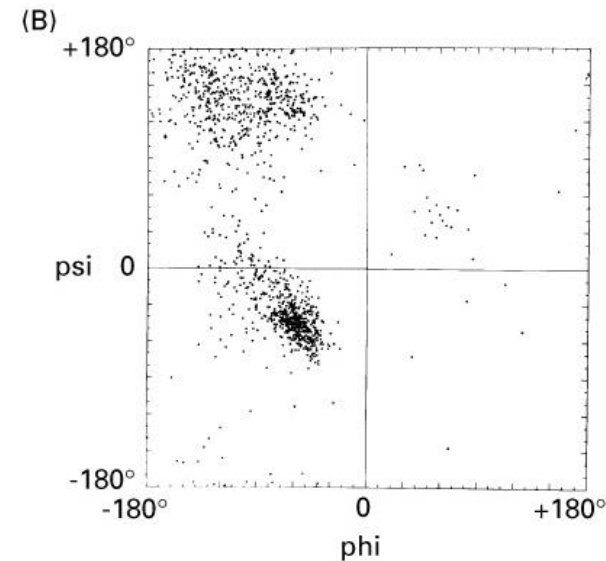
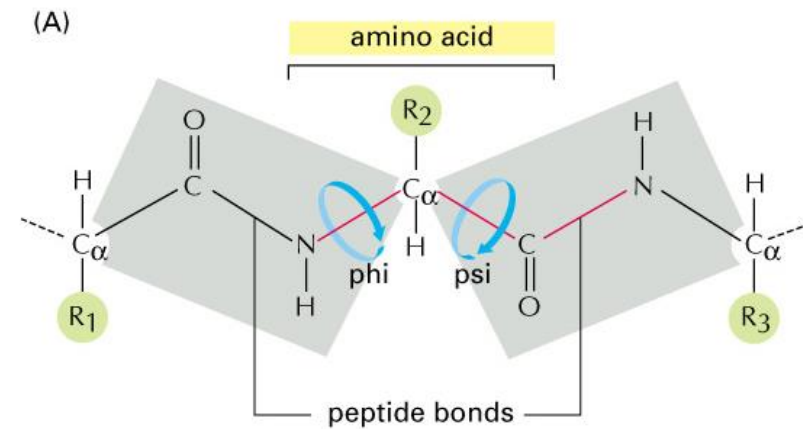
A peptidek / fehérjék szerkezete

- Másodlagos (szekunder) szerkezet: a hidrogénhidak által stabilizált, legalább négy aminosavra kiterjedő rendezettség

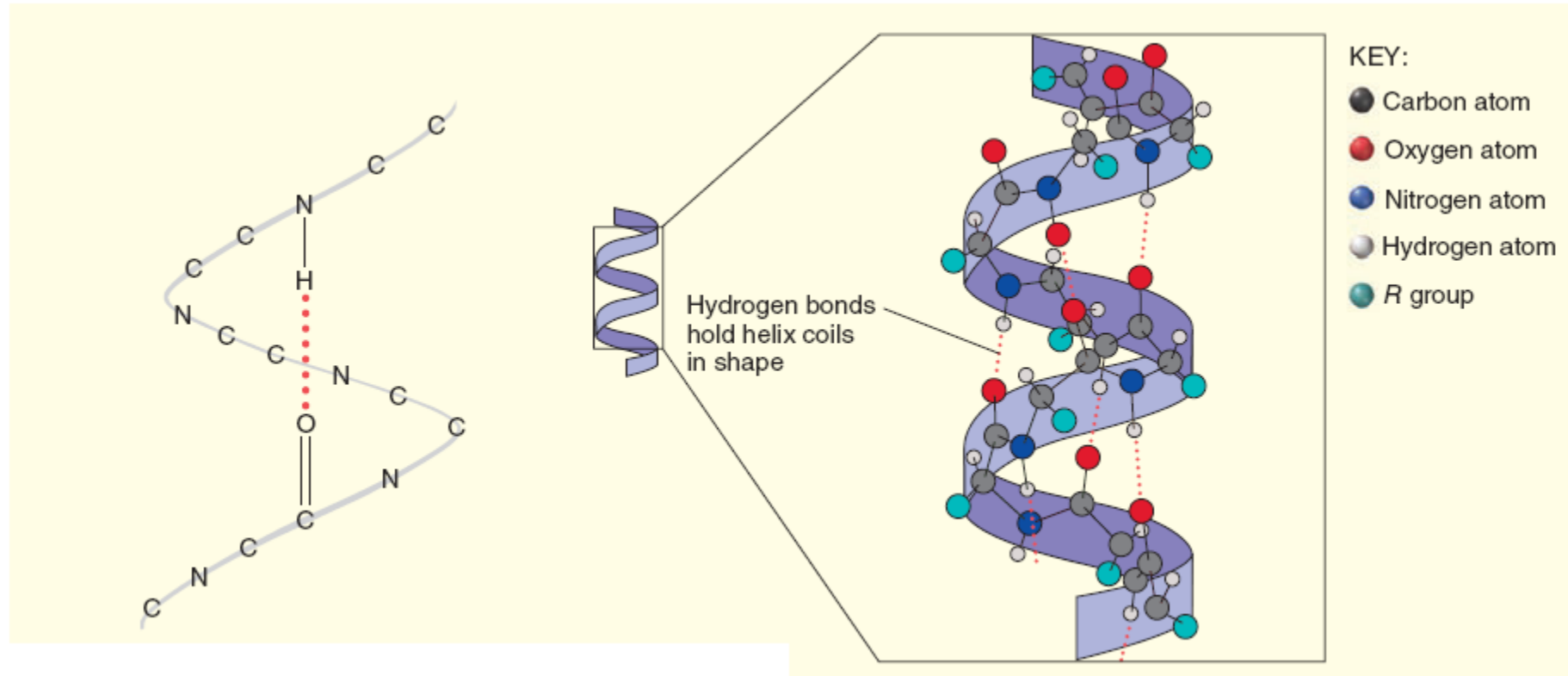


Másodlagos szerkezet

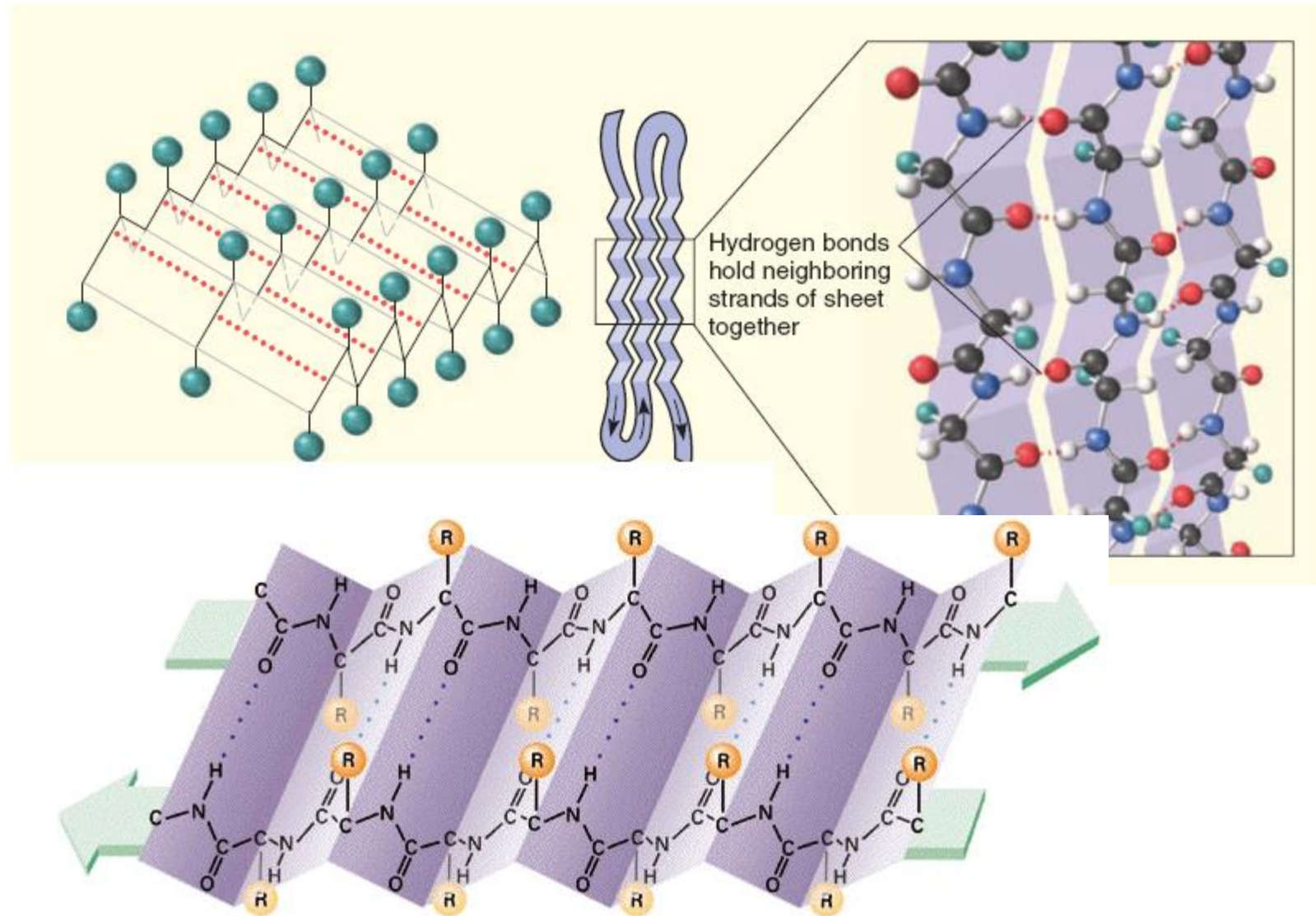
- A peptidsíkok által bezárt szögek (ϕ , φ) által meghatározott konformációk.
 - α -hélix
 - β -redő
 - β -kanyar
 - Rendezetlen (IDP)
- Szerkezet meghatározható
 - CD spektroszkópia
 - kristallográfia / CryoEM
 - A primer szerkezetből modellezéssel valószínűsíthető (AlphaFold)
 - NMR



Másodlagos szerkezet - α -hélix

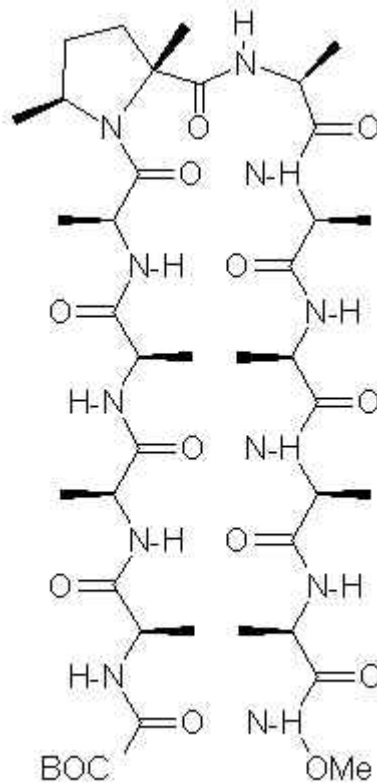


Másodlagos szerkezet - β -redő (antiparallel)



Másodlagos szerkezet - β -kanyar

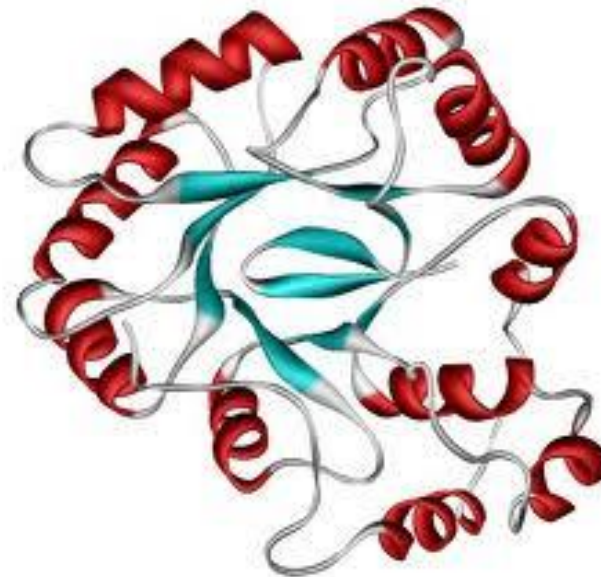
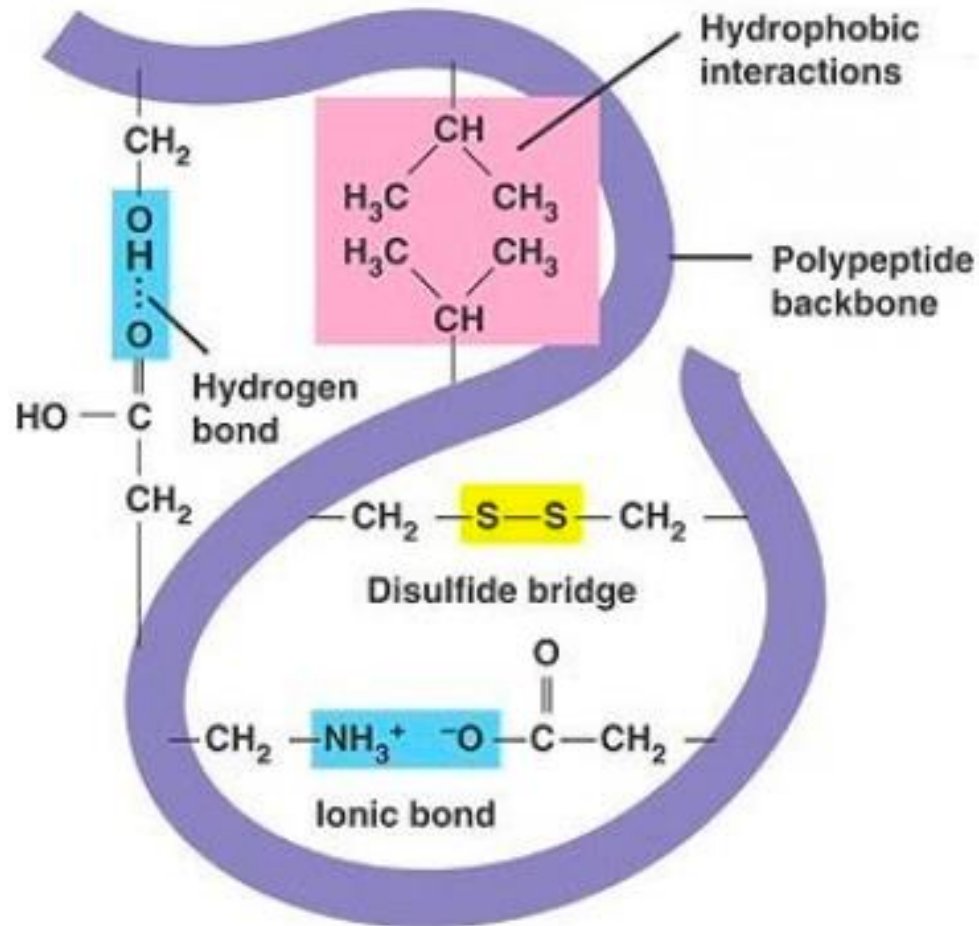
- Antiparallel
- Általában tartalmaz Prolint



Fehérjék harmadlagos szerkezete

- A fehérje 3D szerkezete
- Összetartó erők
 - Apoláris (diszperziós erők) a fehérje belsejében
 - Ionos kölcsönhatás (kívül)
 - H-híd
 - Dipol-dipol
 - Kovalens (diszulfidhidak)
- Globuláris (pl. hemoglobin), fibrilláris (pl. keratin, selyem), membrán, disordered (IDPs)

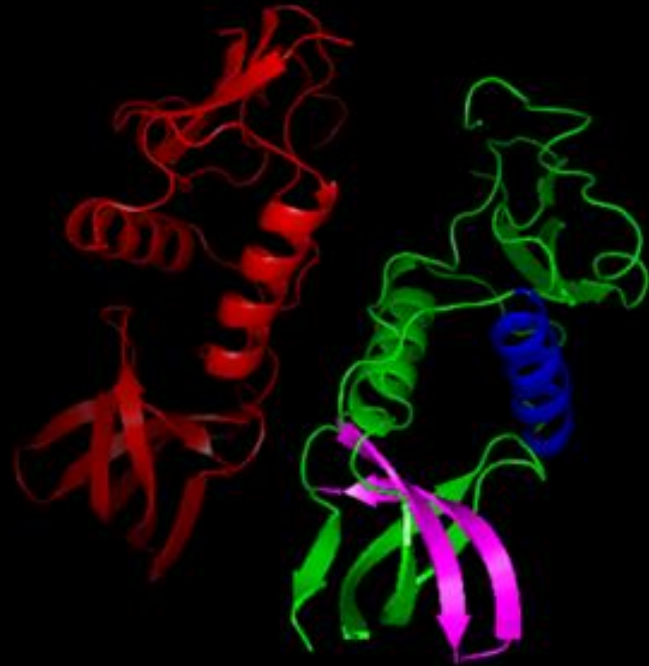
Fehérjék harmadlagos szerkezete



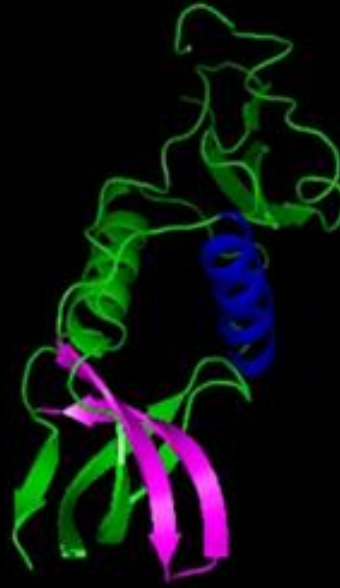
Fehérjék negyedleges szerkezete

- Ha több polipeptid láncból áll össze a funkcionális fehérje
- Az alegységek egymáshoz viszonyított helyzete
- Nem-kovalens összetartó erők
- Az egész fehérje 3D szerkezete
- Hemoglobin, DNS polimeráz, ioncsatornák

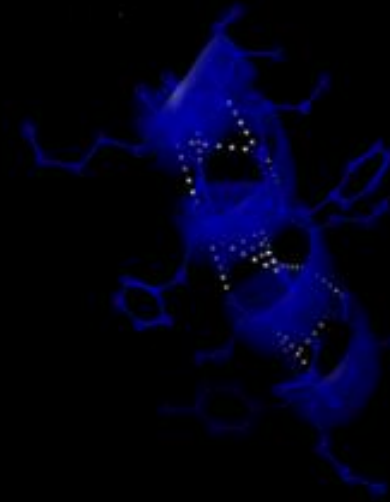
quarternary structure



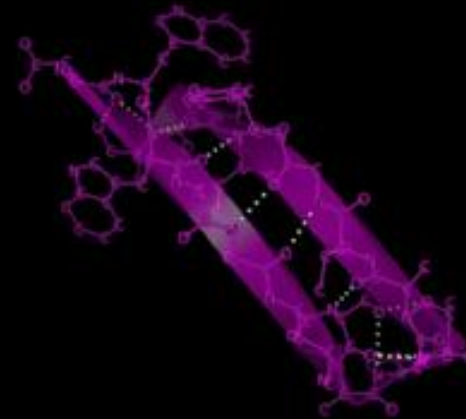
tertiary structure



secondary structure



α -helix



β -sheet

primary structure

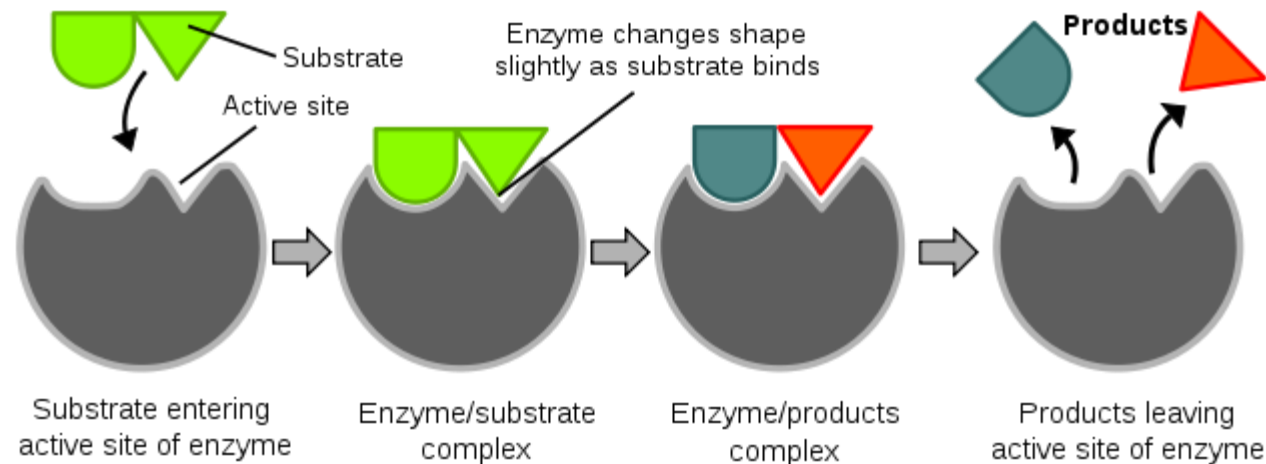
Tyr-Lys- Ala-Ala-Val-Asp-Leu-Ser-His-Phe-Leu-Lys-Glu-Lys
Asp-Trp-Trp-Glu-Ala-Arg-Ser-Leu-Thr-Thr-Gly-Glu-Thr-Gly-Tyr-Pro-Ser

Fehérjék csoportosítása

- Összetétel szerint
 - Egyszerű fehérjék (csak aminosavakból áll)
 - Összetett fehérjék (metallo-, hem-, nukleo-, gliko-, lipo-proteinek)
- Funkció szerint
 - enzim, transzport, struktúr-, védő, hormon, motor, toxin stb.

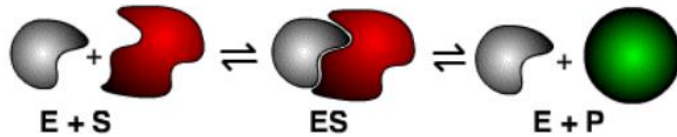
Enzimek

- Kémiai reakciót katalizáló fehérjék
- Csökkentik a reakció $E_a^\ddagger$ -ját (átmeneti állapot stabilizáció)
- Aktív centrum + ligandum(ok)
- Fischer: kulcs-zár elmélet
- (RNS alapú enzimek = ribozimok)



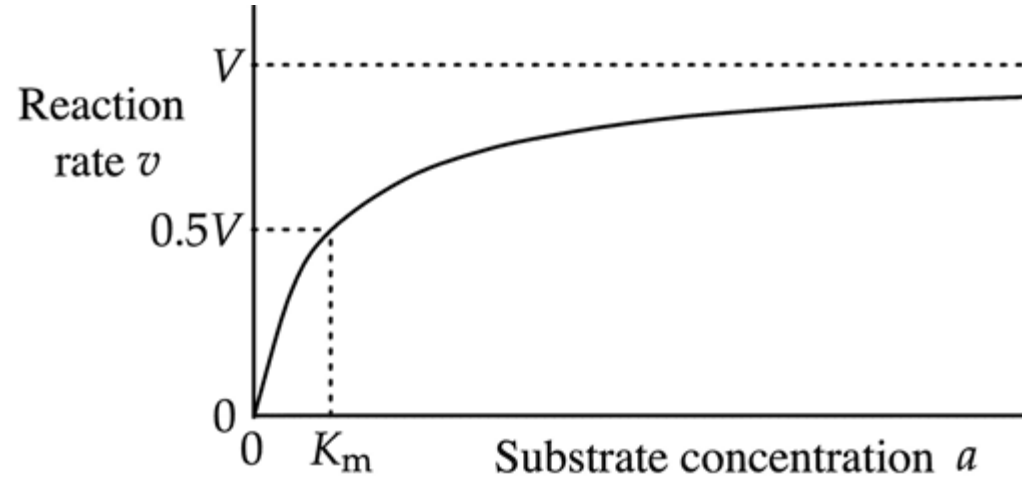
Enzimkinetika

- Michaelis-Menten kinetika



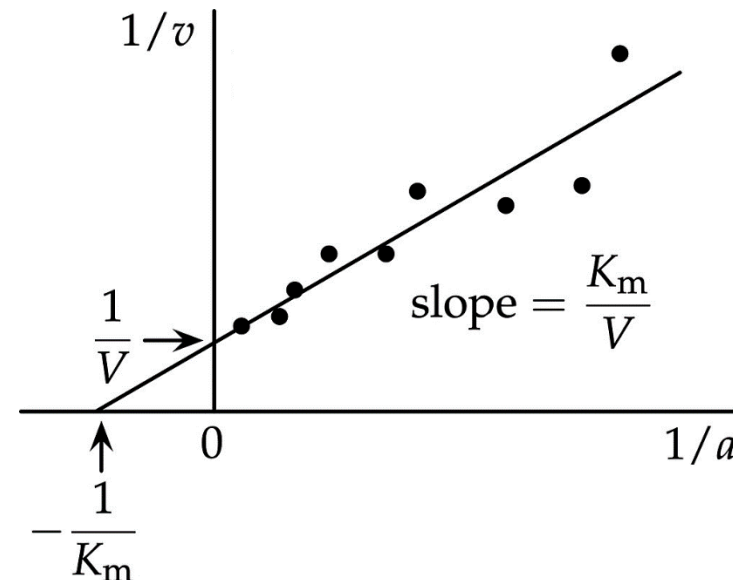
$$-\frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt} = \text{Velocity}$$

$$v = \frac{Va}{K_m + a}$$



- Lineweaver-Burk

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} + \frac{K_m}{V} \cdot \frac{1}{a}$$



Enzimek

- **Alloszterikus** hatás (az enzimen egy másik kötőhely – szabályozás)
- **Kofaktorok** (szerves: pl. hem; szvetlen: pl. vas)
 - **prosztetikus** csoport (szorosan kötődik az enzimhez)
 - **koenzim** (~szubsztrát)
- **Apoenzim** (kofaktor nélkül), **holoenzim** (kofaktorral)
- **Inhibitorok** (enzimgátlók) (*kovalens, nem kovalens*)

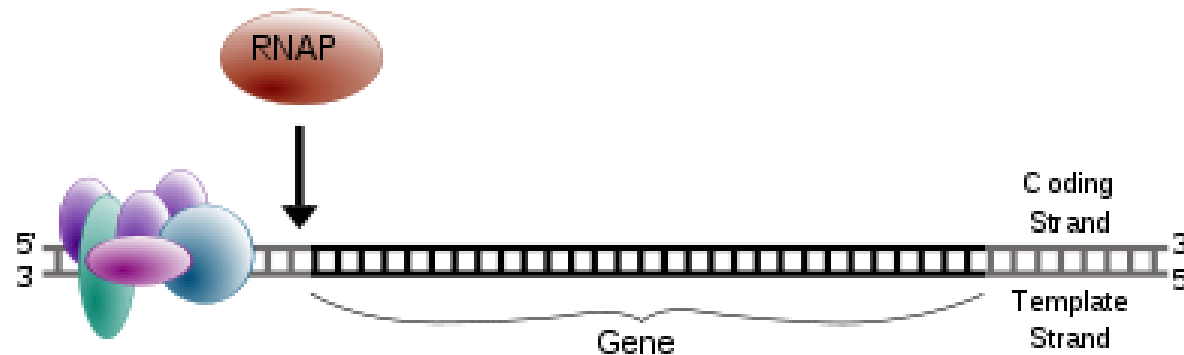
Fehérjék szintézise

- Centrális dogma: DNS-RNS-Fehérje
- Triplet - kodon - antikodon – aminosav

Transzkripció (DNS-RNS)

Preiniciáció:

- Promóter szakasz: a gént megelőző DNS szakasz (pl. TATA-box)
- Transzkripciós faktorok kötődnek a promóter szakaszhoz (pl. TATA-kötő fehérje)
- Egyéb transzkripciós faktorok
- Giráz + Helikáz aktivitású transzkripciós faktor (letekeri és szétszedi a kettős szálát)



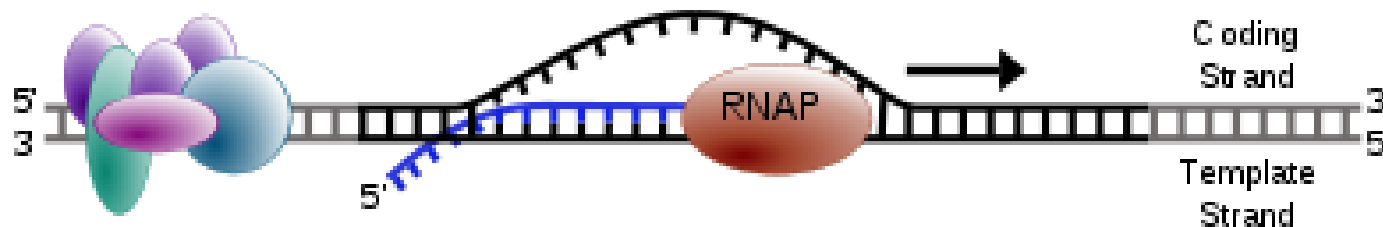
Transzkripció (DNS-RNS)

Iniciáció:

- A transzkripció faktorok megkötik az RNS polimerázt (RNAP) – DNS dependens (transzkripció buborék)
- Iniciációs komplex, megkezdődik az átírás (coding = sense, non-coding = antisense vagy template strand)

Elongáció:

- A templát (non coding) szárról fordítódik le RNS-re a DNS információ (szintézis 5' -> 3')
- T helyett U



Transzkripció (DNS-RNS)

Termináció:

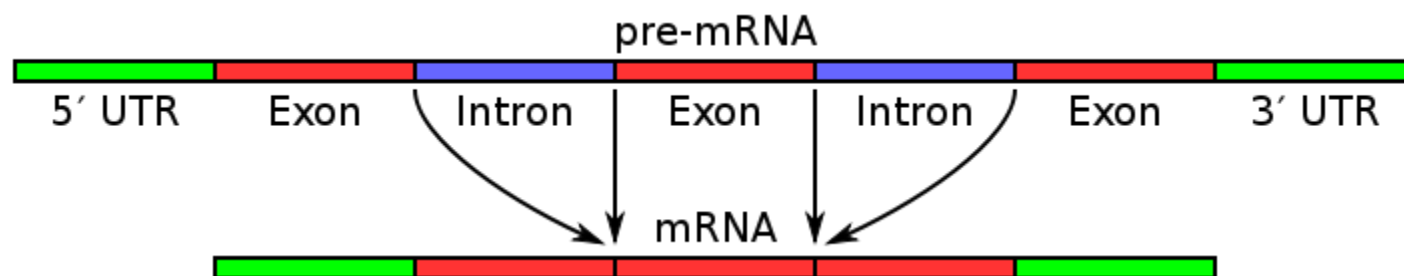
- A kódoló szakasz végén egy G-C gazdag szakasz, illetve poli A található
- Hajtű szerkezet alakul ki
- Szétesik a transzkripciós apparátus

mRNS módosítás

- Az elkészült pre-mRNS módosítása - jelölés, **5'-cap – metilguanozinnal**
 - Export, védelem a lebontástól, transzláció elkezdése, splicing
- **3' poliA farok**
 - védelem a lebontástól, export
- Sejtmagban (mitokondrium, plasztisz), citoszólban
- Nukleotid módosítás (deaminálás) C-U; A-I

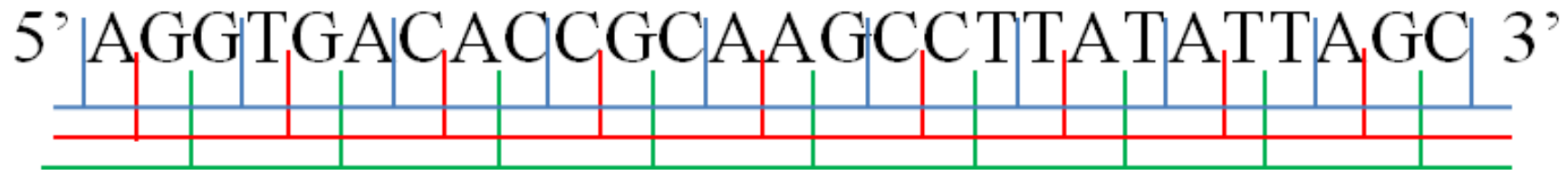
mRNS módosítás

- RNS „átszabás” - splicing



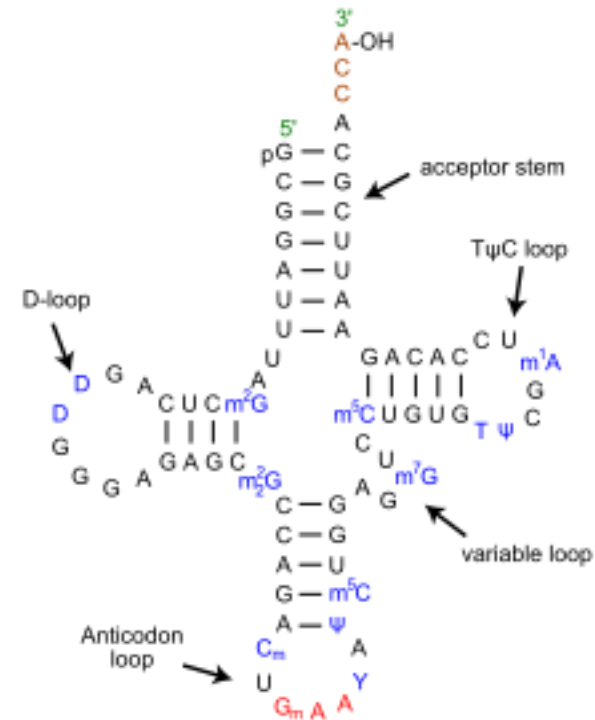
Transzláció (mRNS-tRNS-aminosav)

- Bázishármasok (egymást követő, nem átlapoló)
- Leolvasási keret (reading frame)
- 5'-cap (Me-G) biztosítja

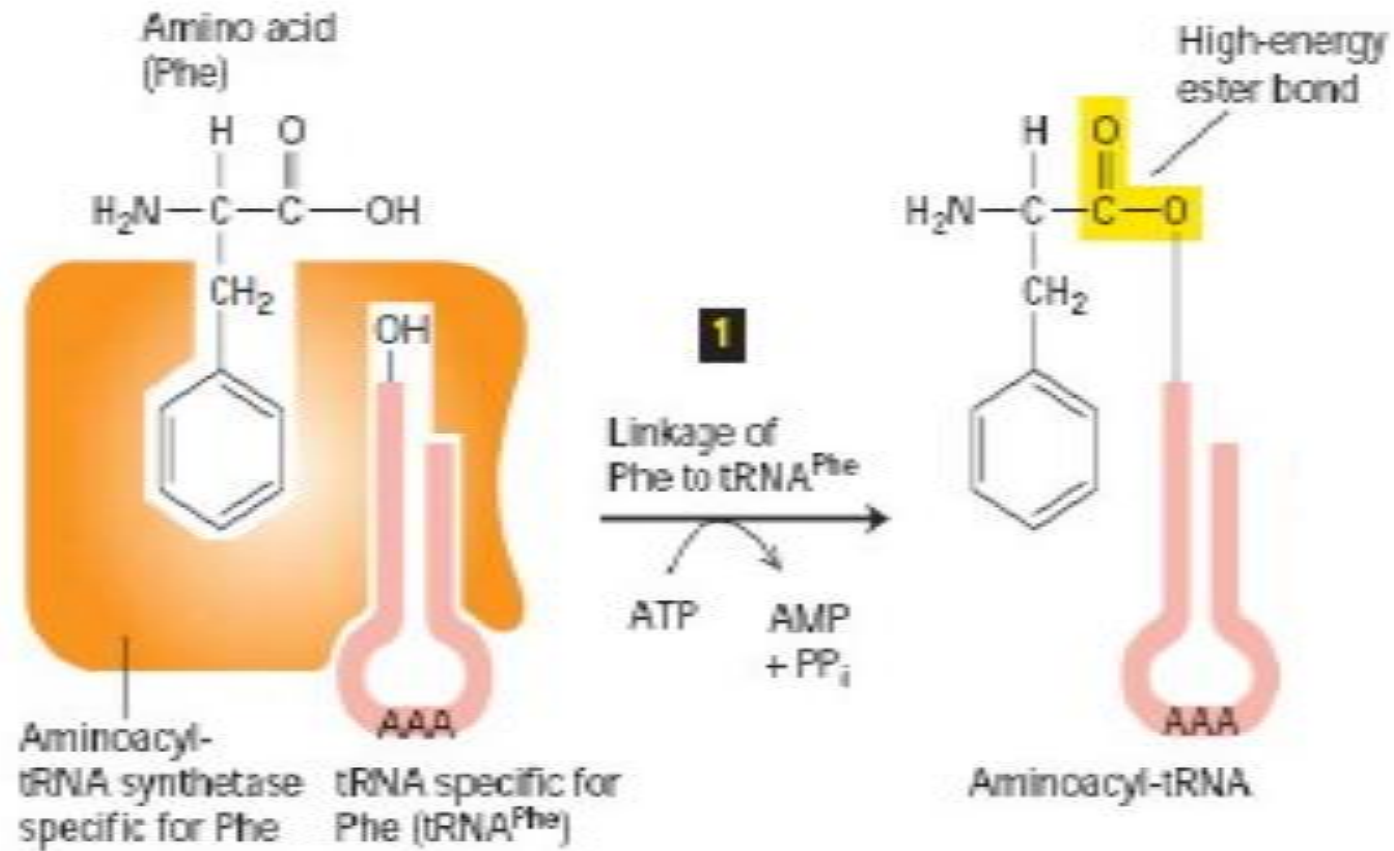


Transzláció (mRNS-tRNS-aminosav)

- mRNS, riboszóma (két alegység rRNS+ fehérje)
- Kialakul a transzlációs komplex
- START kodon (AUG) mindig Met-t kódol
- tRNS

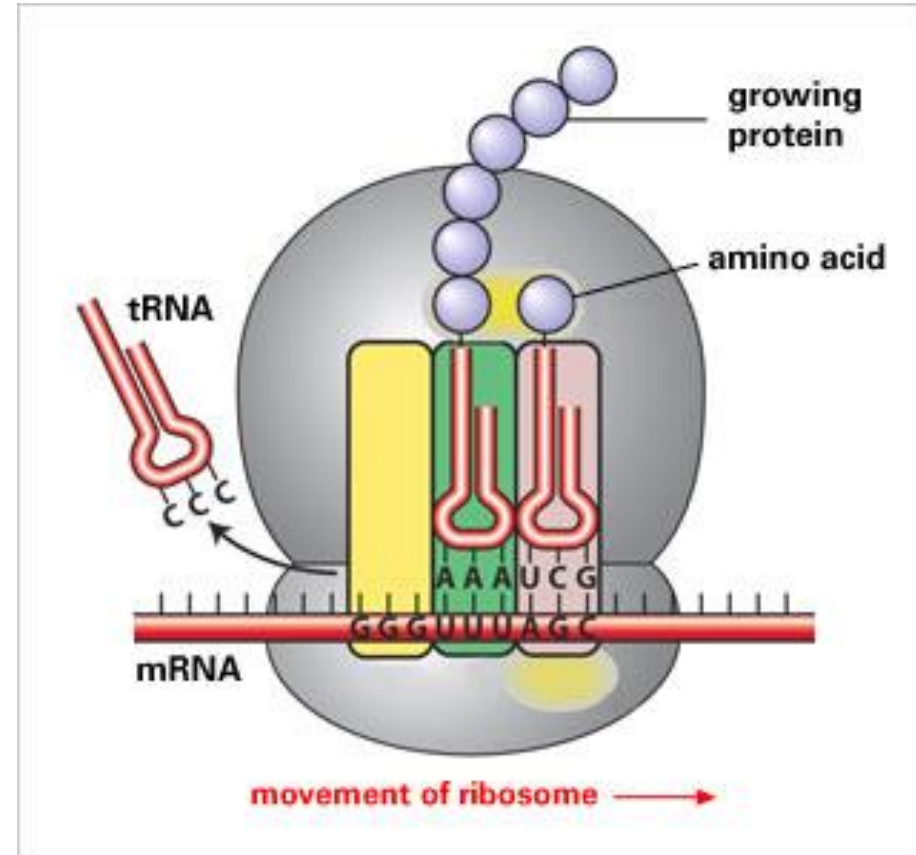


tRNS-Aminosav



Transzláció (mRNS-tRNS-aminosav)

- A riboszóma 5' → 3' irányban olvassa le az mRNS-t
- Iniciáció (START)
- Elongáció
- Transzlokáció
- Termináció (STOP kodon)



STOP kodonok

- UAG ("amber")
- UAA ("ochre")
- UGA ("opal")
- STOP kodonnál leáll a transzláció
- Nem természetes aminosavak kódolására használják

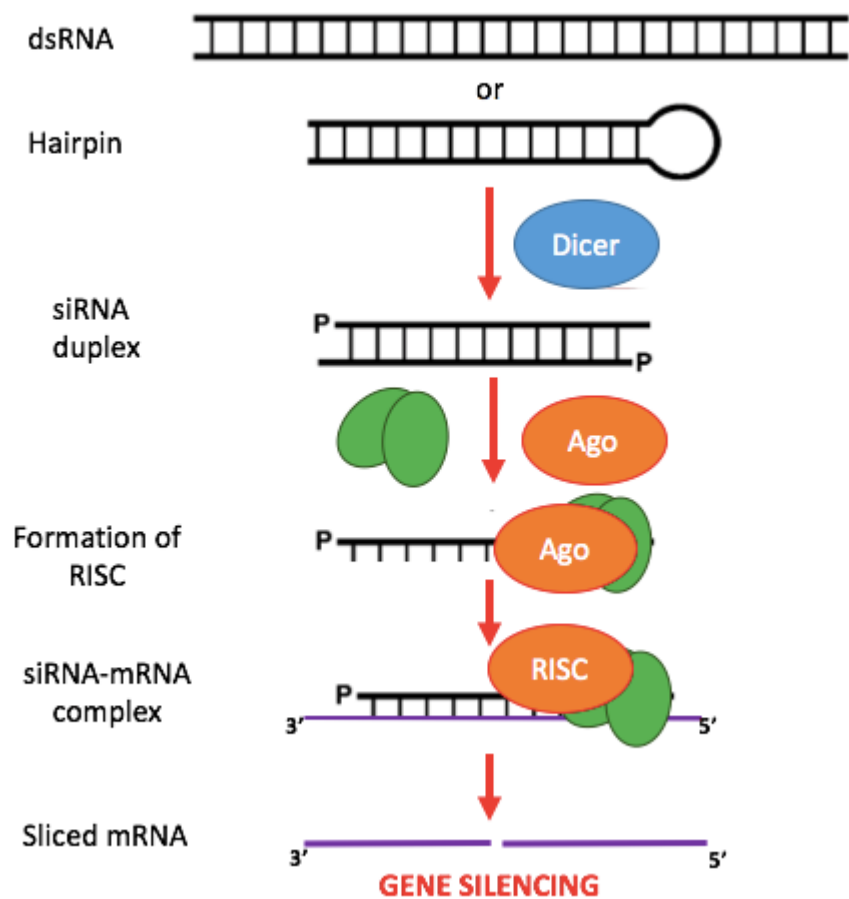
Poszt-transzlációs módosítások

- Enzimek által katalizált
- Funkciós (+ kofaktorok) csoportok hozzáadása
 - Lipid, cukor, nukleinsav stb.
- Egyéb polipeptidláncok hozzáadása
- Aminosav módosítások (pl. Arg → citrulin, vagy ornitin)
- Szerkezeti módosítások (pl. diszulfidhidak)
- Foszforiláció (kinázok által, fontos szabályozási elem)

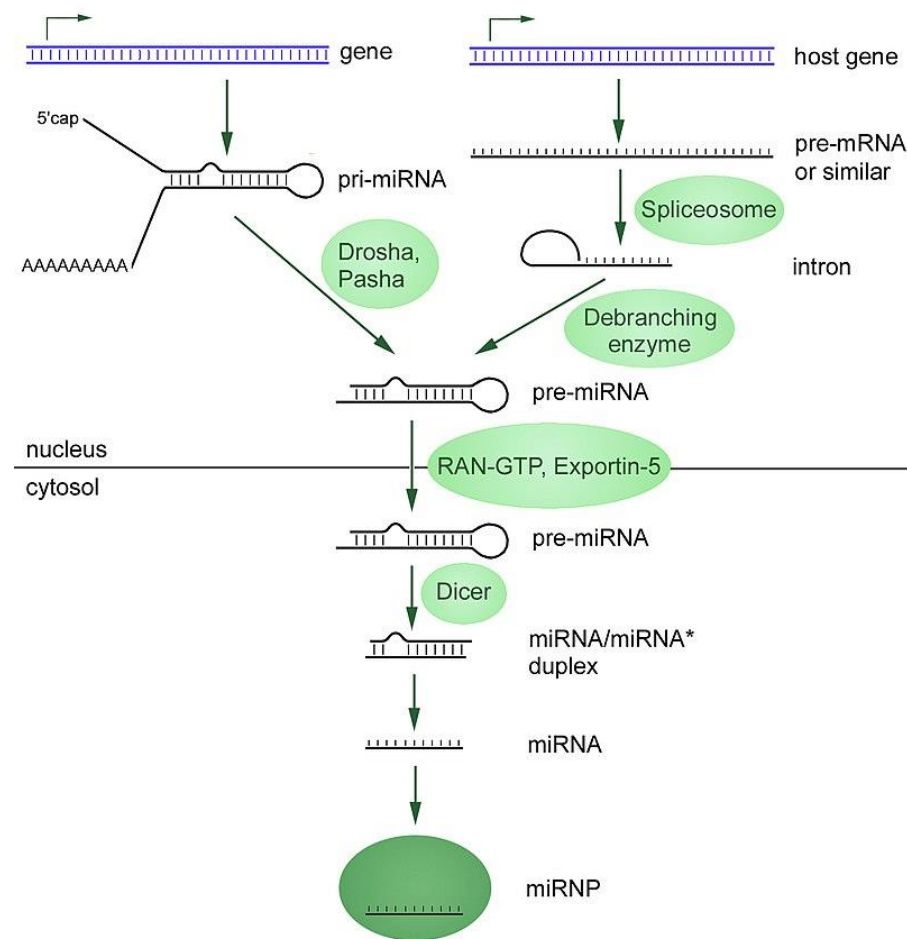
Génexpresszió

- START és STOP triplet / kodon között
- Transzkripció faktorok
- Expresszió szabályozás : egyedfejlődés, differenciáció stb. alatt miről történjen átírás
- DNS silencing (metilálás, hisztonok)
- micro RNS, short interfering RNS (20-30 bp)

Génexpresszió szabályozása RNS-ekkel



Főleg egy cél mRNS



Több cél mRNS

Pontmutációk

- Egy bázispárt érintő mutáció
- „silent” : kodon változik, de ugyanazt az AA-t jelenti
- „neutral” : más aminosavat kódol, de nincs hatása
- „missense” : új aminosavat eredményez aminek hatása is van
- „nonsense” : STOP tripletet / kodont eredményez
- „frameshift” : nukleotid elimináció, addíció miatt eltolódik a leolvasási keret

Back-mutációk (reverziók)

- Exakt reverzió: az eredeti aminosavat eredményezi
- Ekvivalens reverzió : neutrális mutációt eredményez, az új aminosavnak nincsen hatása

Amber szupresszorok

- Amber szupresszor mutáció eredményeként pl. a Tyr-t szállító tRNS antikodonjában AUC jelenik meg, képes a STOP-kodonhoz kötni
- Természetes amber szupresszió: archeákból (nem-természetes aminosavak beépítése)