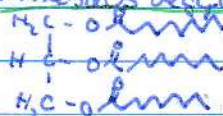


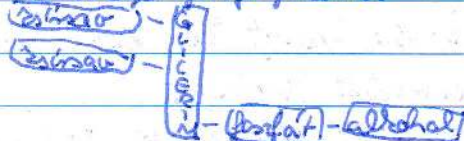
⑧ A biológiai membránok kompozíciója és felépítése, a membrán felépítés típusai és funkciói

- lipidek: színdoliponok (hidrofób/amfoték) természetes vegyületek

• zsírok, olajok: trigliceridek



• foszfolipidek: többsége foszfoglicerid



abonyeszelet:

foszfát és zsír

• amfoték: am

• glikolipidek: foszfatidil-inozitol, foszfatidil-serin, foszfatidil-kolin

• glikolipidek = színdolipidek: színgozin, színgomielin

általában a színdolipid alapja

erő is foszfolipid

am

• steroidok: cholesterin • élelőanyag + a szervezet is elő tudja állítani

membrán stabilizálja

• túl sok LDL → ateroszklerózis

- A biológiai membránok:

• elválaszt a környezettől, sejtakciókat határozza

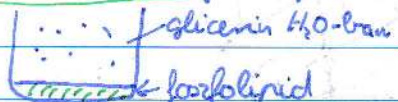
• 60-100 Å vastag, ~50%-a fehérje

• selektív átjáró rétege, transzport folyamatok

• aszimmetrikus

• polimizáció

• foszfolipidekből és glikolipidekből → liposóma



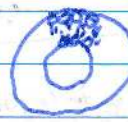
személyes



személyes



liposóma



hidrofób részek
hidrofób tartó
szere

• átjárhatóság: ionok és hidrofób anyagok számára átjárhatatlan

kanálak, pumpák, transzporterek

• hidrofób anyagok → átjár

• fehérje tartalom: 12% (mielin) ... 75% (mit.)

• membrán kompozíció (pl: GPI): használat hidrofób szere tört a membrán

fehérjék → erő szere a membrán

transzmembrán

• transzmembrán

• transzmembrán szere szere szere szere



• transzmembrán szere szere szere szere

• transzmembrán szere szere szere szere

• transzmembrán szere szere szere szere

integrális

• transzmembrán szere szere szere szere

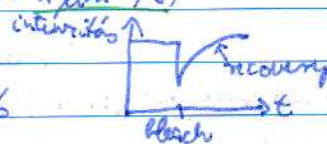
prostaglandin H_2 szintje: - hidrofób oldalláncal elölődik be
(COX-1)

- az aspirinin gátolja
- gyulladáscsökkentő hatású

- membrándiffúzió:

- membrán $\sim$ 2D folyadék
- oldalináry mozgás gyors
- oldalváltás (flip-flop): lassú
- $s = (4 \cdot D \cdot t)^{1/2}$: egy lipid s -ként 2 μm -t tesz meg ($\sim$ hált. mérete)
: átlagosan megtett távolság $t = idő$
- D: laterális diffúzió állandó ($\sim 1 \mu m^2/s$)

- mérés: fluoreszcenen jelölt lipiddel
- photobleaching: lézerimpulzussal gyengítés

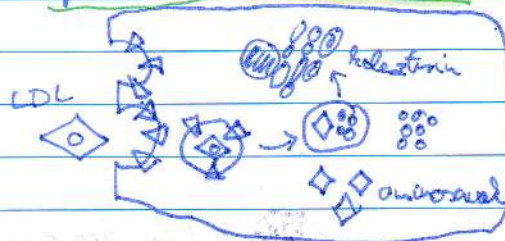


- membrán fluiditás: a toksterin szátyalysága

- membrán aszimmetria:

- kívül: CH-láncok (3)
- Na^+/K^+ ATPáz: külső Na^+ -ot, külső K^+ -ot (2)
- normálisan a foszfatidil serin (PS) a sejtmembrán belső oldalán
apoptózis sejtben elfordul

- receptor mediatált endocitózis: LDH felvitel LDH-receptorral $\rightarrow$ mozgás phagoc

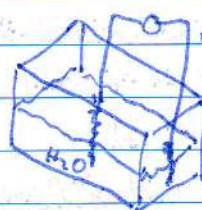


a használt phagoc gondyulitásával és exon kuverekcióval töröl át

- vírusok felvitel endocitózissal
- limfociták: pl. szinapszis



- membrán vesztőképes vesztés viszálata:



elektrolit

$\hookrightarrow$ membrán

⑨ A Na^+/K^+ pumpa, a Na^+ csatorna és a K^+ csatorna működése. Az akció potenciál és az ingerületvezetés. Diszandum- és feszültségfüggő csatornák

- hidrofil és ions anyagok transportja:

• pumpák: aktív transport $\rightarrow$ E-t igényel (ATP, K^+)

• kotransporterek: aktív transport, 2 anyag együtt

egyik a konc. gradiens irányába, másik ellentétben

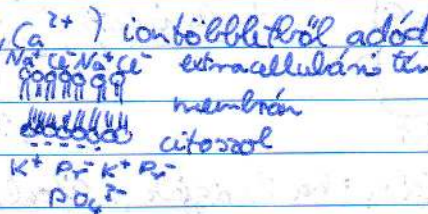
• csatornák: passzív transport, a konc gradiens irányába, de szabályozható

- membrán potenciál:

• a sejtben "törlem lévő" egyensúlyi potenciál (Na^+ , Ca^{2+}) ionokból álló

• Na^+ , K^+ pumpa alakítja ki

• -60 mV



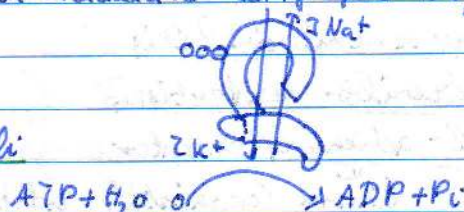
- Na^+/K^+ pumpa:

• P-típusú ATP-áz (P: foszforiláció): 2 féle konformáció (E_1, E_2) közti átfordulás egy aszparagin oldallánca (de) foszforilációja miatt

• 3 Na^+ ki - 2 K^+ be (-1 ATP)

• Eforrás: iongradiens

• digitoxigenin gátlója $\rightarrow$ Ca^{2+} szintet emeli



- ABC transporterek: ATP-áz pumpák másik típusa

• ATP - binding cassette

• pld: MDR

- kotransporterek: • antiporter (Na^+ - Ca^{2+} cserélő)

• simporter (Na^+ - glükóz simporter)

- csatornák: • gyorsan szabályozható

• nyílt és zárt állapot

• nyitási módja: ligand- / feszültségfüggő

• általában spontán záródik

- acetyl-cholin receptor: ligandumfüggő

• nyitása $\rightarrow$ membrán depolarizáció (Na^+ be, K^+ ki)

- Na^+ és K^+ csatorna: feszültségfüggő

- Ingerület vezetés: akció potenciál továbbvitel

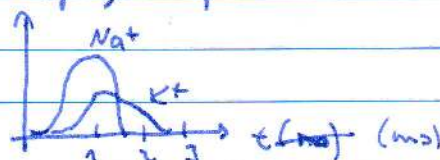
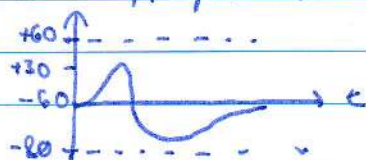
① kezdeti depolarizáció

② Na^+ csatornák megnyílásával lokalizált $\rightarrow$ további depolarizáció

③ depolarizáció továbbterjed

④ Na^+ -csatornák lezárásával, közben K^+ csatornák nyílnak $\rightarrow$ polarizáció

⑤ Na^+ - K^+ pumpa lecsökkentíti a nyugalmi potenciált



- K^+ szaturna: 3 Å széles

• dehidratálódik a K^+

hidrátburkolat helyett (O csoportok kapcsolódik)

Na^+ esetén a dehidratációt nem kompenzálja a (O-hoz kötés) $\rightarrow$??? nem jut át

• 2 kötéshely modell: a belépő K^+ kitér a régit

- Na^+ szaturna: $Na^+ + H_2O$ pont átér

• $K^+ + H_2O$ már nem fér át

ioncsatornák spontán záródása: "láncos labda"



• igazolás: ha levágjuk a citoplazma felőli N-terminális részt
nyitva marad

N-terminális peptid hozzáadására a funkció helyreáll

- G-protein kapcsoló receptorok:

• 7 transzmembrán helix

• ligand-aktiválható receptor típus

• pld: β -adrenerg receptor

ligand (agonista): adrenalin

antagonista: oda köt, de nem a ligand, de gátol

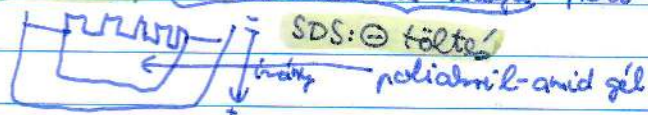
• α , β , γ alegységek:

GTP-t köt $\rightarrow$ aktiválódik $\rightarrow$ effektor aktiválja

szint GTP-án aktivitása inaktiválódik idővel

10) Fehérjevizsgálati módszerek

- SDS-PAGE: sodium-dodecyl-sulfate poli-acril-amid gél elektroforézis



- fehérje méret szerinti szétválasztása (legkisebb a leggyorsabb)
- festés: coomassie festékkel
- látszólagos moláris tömeg is meghatározható
- redukálószer hatására töltés $\rightarrow$ feldarabolódik
- Da: dalton - atomi tömegegység (^{12}C atom tömegének $1/12$ -része)

- MS: tömegspektrometria (MALDI-TOF)

- moláris tömeg pontosabban meghatározására
- mátrix anyagot lézer hatására $\rightarrow$ ionizáció és szétfúvása történik

$$F = E \cdot \lambda \cdot e \cdot \text{töltés} = m \cdot a$$

töltés töltéssűrűsége

$$d = \frac{1}{2} \cdot a \cdot t^2$$

deceleráció

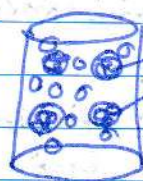
$\rightarrow m/z$ kiszámolható

tömegspektrum: m/z szerinti eloszlás

- A fehérje tisztítása: kromatográfia



gélátírás:



CH polimer gyöngy
a ki. molekulák közt
guggolnak nem $\rightarrow$ gyorsabban

ioncsere kromatográfia:



- a $\oplus$ töltésű protein a $\ominus$ gyöngyre köti
 - $\ominus$ töltésű oldóanyag
- (ig. a kisebb eltérő fehérje is elválasztható)

- izoelektromos pont meghatározása: ahol = mekkorában ionizált az aminosav mint 2 pontja

pH 9

pH 3

$\rightarrow$



a fehérje a pH szerint szétválasztódik

előfűtési
előkezelés

pld: bázikusnak nagyon

savanyú alacsony

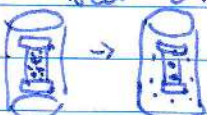
elektromos tér hatására fehérje hozzáadása
 $\rightarrow$ pH gradiens

elektromos tér

- 2D elektroforézis: nagyon nagy felbontás, esy teljes proteom vizsgálható

- kinetikai vizsgálatok: UV-Vis spektrofotometria

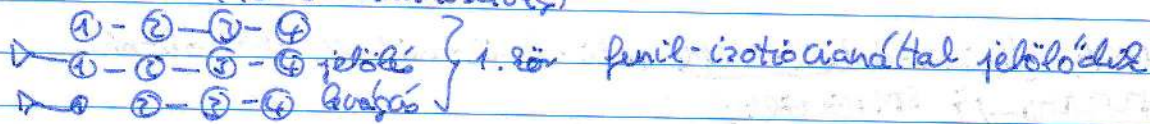
- $\text{kelet} + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{pim} + \text{NADH} + \text{H}^+$
- 340 nm-en csak a NADH-nak van elnyelése $\rightarrow$ a reakció követhető
- Lambert-Beer tör. $A = \epsilon \cdot c \cdot l$

- Dialízis:  egyszerű

- Ultracentrifugálás: S: sedimentációs koeficiens (Svedberg egység)

$\rightarrow$ $\downarrow$ sűrűség gradiens $\rightarrow$ bele a minta $\rightarrow$ centrifugálás $\rightarrow$ S szerint szétválik
pld: 30S + 50S alegység

- Edman felbontás: szekvencia meghatározása az N-terminális felől
(15-30 aminosavig)



- ELISA: enzim-linkelt immunosorbent assay
detektálás antitestekkel

sandwich ELISA: 1. Burkolás



2. antigén (mérendő) magas felvitése

3. második antitest (enne is lehet kötni az enzimet)

4. enzim-antitest konjugátum

5. detektálás enzimreakcióval (színes termék)

- NMR spektroszkópia:

^1H , ^{15}N , ^{13}C izotópok mágnesűjei: $\pm 1/2$

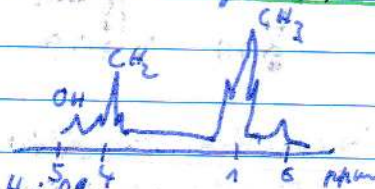
mágneses térben a 2-féle spinállapotot E- és Kútlókörök

800 MHz-es NMR-ben a ^1H két állapotba kerül átmenet 800 MHz-es rádióhullámmal

Chemical shift: egy nagy kémiai környezetű befolyásolja a lokális mágneses tereket, de csak kis mértékben

rezonancia csak akkor, ha a helyi mágneses mezőnek megfelelő a rádió sugárzás frekvenciája
 $\rightarrow$ igazán látható a mágneses mező erejét változtatva

mágnes erősségekor közelebb kerül a felbontás
 + fél/200 viszony



feljött 1D proton NMR spektruma: rossz felbontás, keletkezett info

2D NMR: javul a felbontás

NDE: szekvenciában tároló, de térben közelebbi kölcsönhatások detektálása

2D $^1\text{H} - ^{15}\text{N}$ HSQC: NH (amid) - csoportok detektálása

- Röntgen kristallográfia:

a röntgensugár az e-tól valódi $\rightarrow$ e sűrűség térkép (atomi sűrűség térkép)

röntgen diffrakció:

feltétel: a H rácsokból visszaverődő sugaraknak útkülönbsége a hullámhossz egész számú többszöröse

$$2d \cdot \sin \alpha = n \cdot \lambda$$

az egykristály diffrakciós képe diszkrét pontokból áll (?? "reflexiók")

hozzárendelhető a kristallográfia, szelvények (??) invariancia