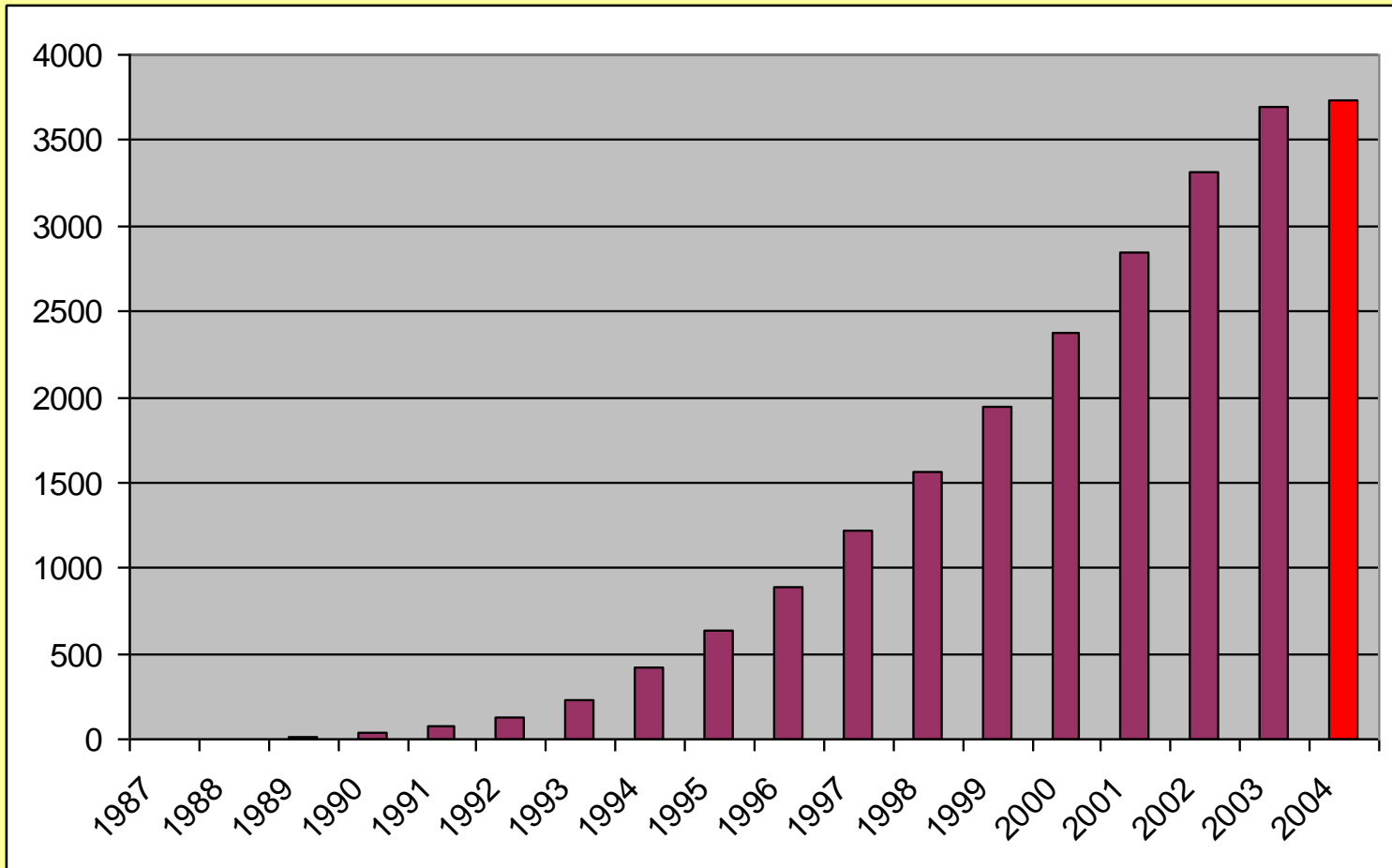




NMR a peptid- és fehérje-kutatásban

A PDB adatbázisban megtalálható NMR alapú fehérjeszerkezetek számának alakulása az elmúlt évek során

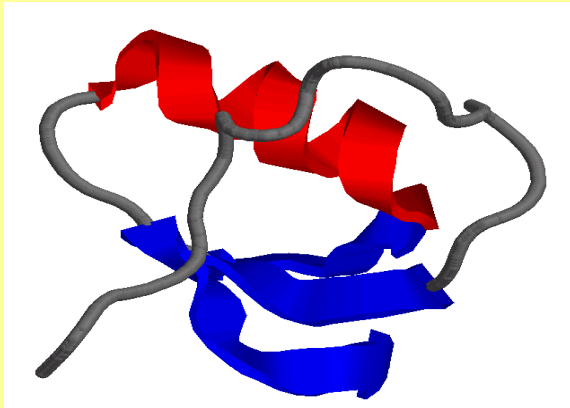


PDB = protein data bank

Kémiai Nobel-díj 2002

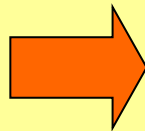
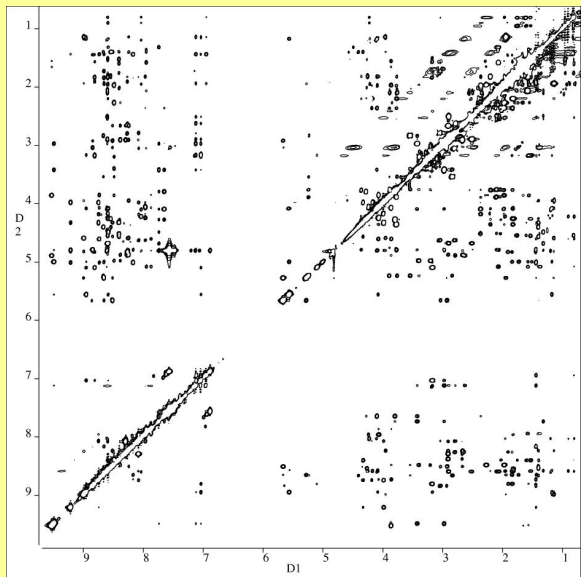


Kurt Wüthrich

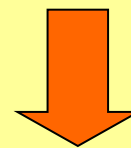


"for the development of methods for identification and structure analyses of biological macromolecules"

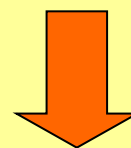
NMR spektrum



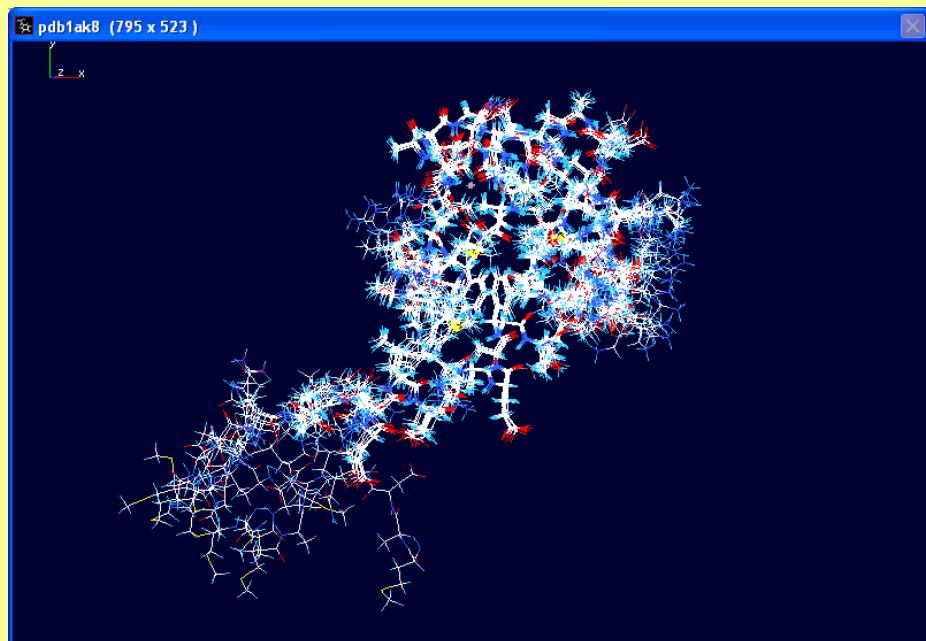
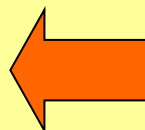
**spinrendszerek
azonosítása**



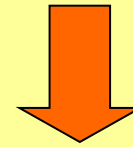
**spinrendszerek
szekvenciális
rendezése**



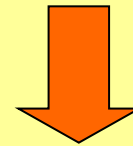
**kényszerfeltételek
alapján
szerkezetszámolás**



**1. spinrendszerek
azonosítása**



**2. spinrendszerek
szekvenciális
rendezése**



**3. kényszerfeltételek
alapján
szerkezetszámolás**

Homonukleáris eljárás (homonukleáris 3J , $M < 8\text{kDa}$)
(^1H - ^1H COSY, ^1H - ^1H RELAY, ^1H - ^1H TOCSY)

Heteronukleáris eljárás (heteronukleáris 1J , 2J , 3J)

^{15}N -szerkesztés ($M < 15\text{kDa}$)

(^1H - ^{15}N TOCSY-HSQC, ^1H - ^{15}N NOESY-HSQC)

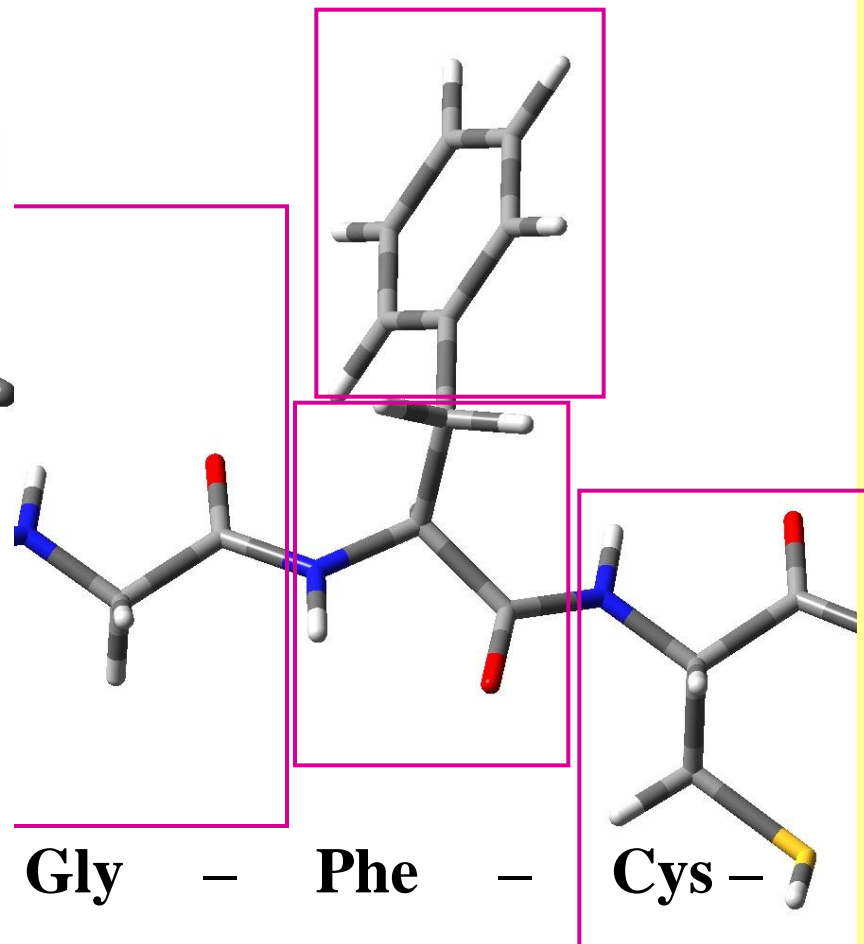
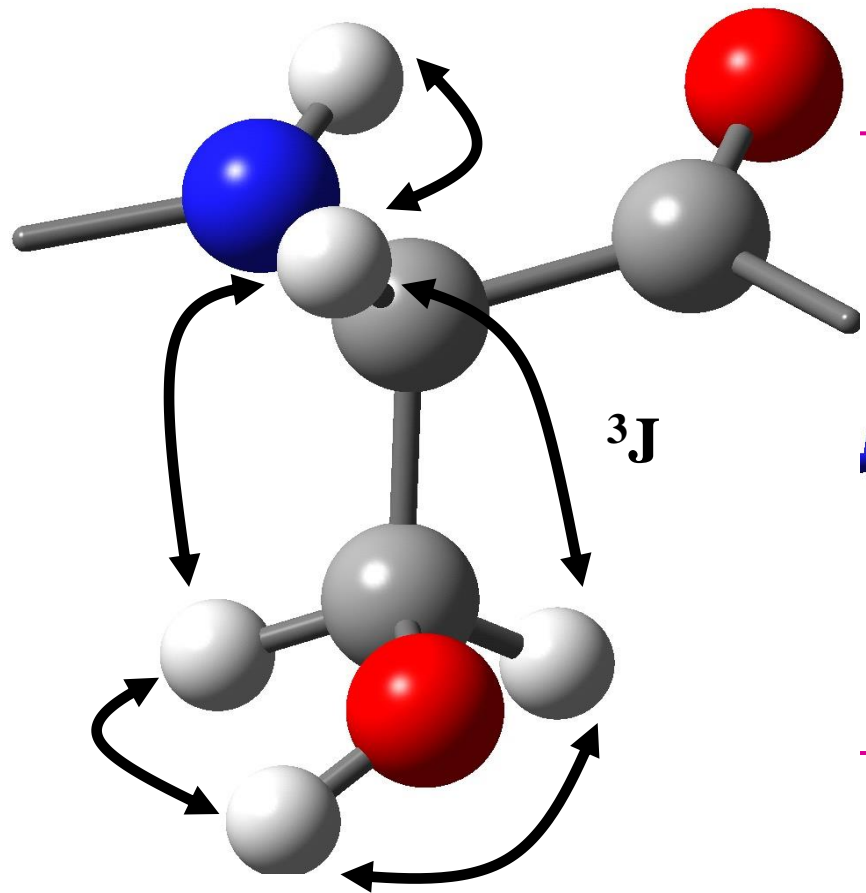
^{15}N , ^{13}C -szerkesztés ($M < 20\text{kDa}$)

(HNCA, HNCOCA,)

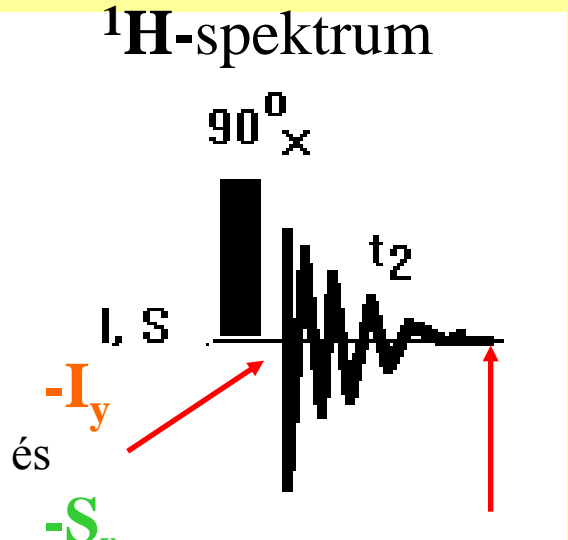
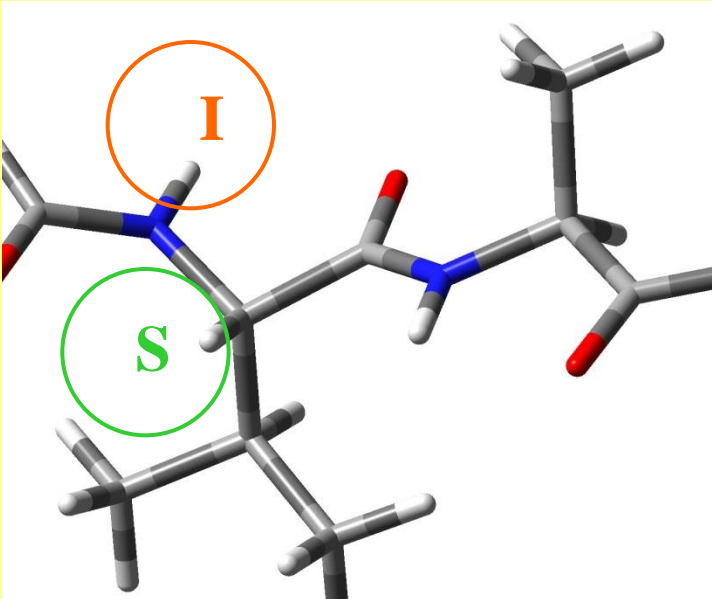
^{15}N , ^{13}C -szerkesztés (^2H) ($M < 30\text{kDa}$)

spinrendszerek azonosítása

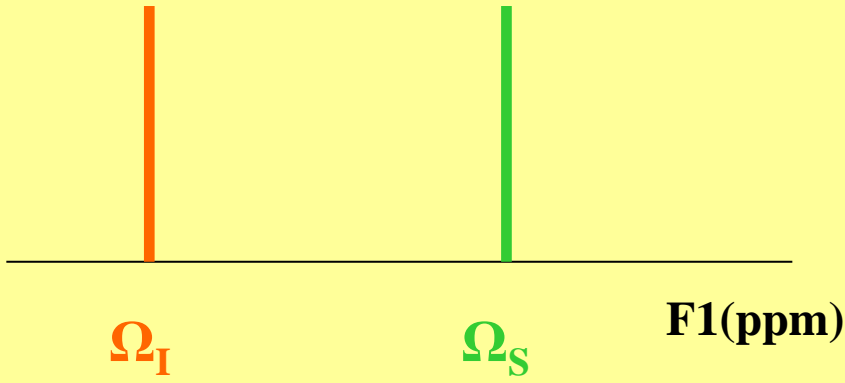
Peptidekben és a fehérjékben az aminosavak hidrogénatomjai elkülönülő spinrendszereket alkotnak



spinrendszerek azonosítása



$I_x \sin(\Omega_I t_1)$
 és
 $S_x \sin(\Omega_S t_1)$



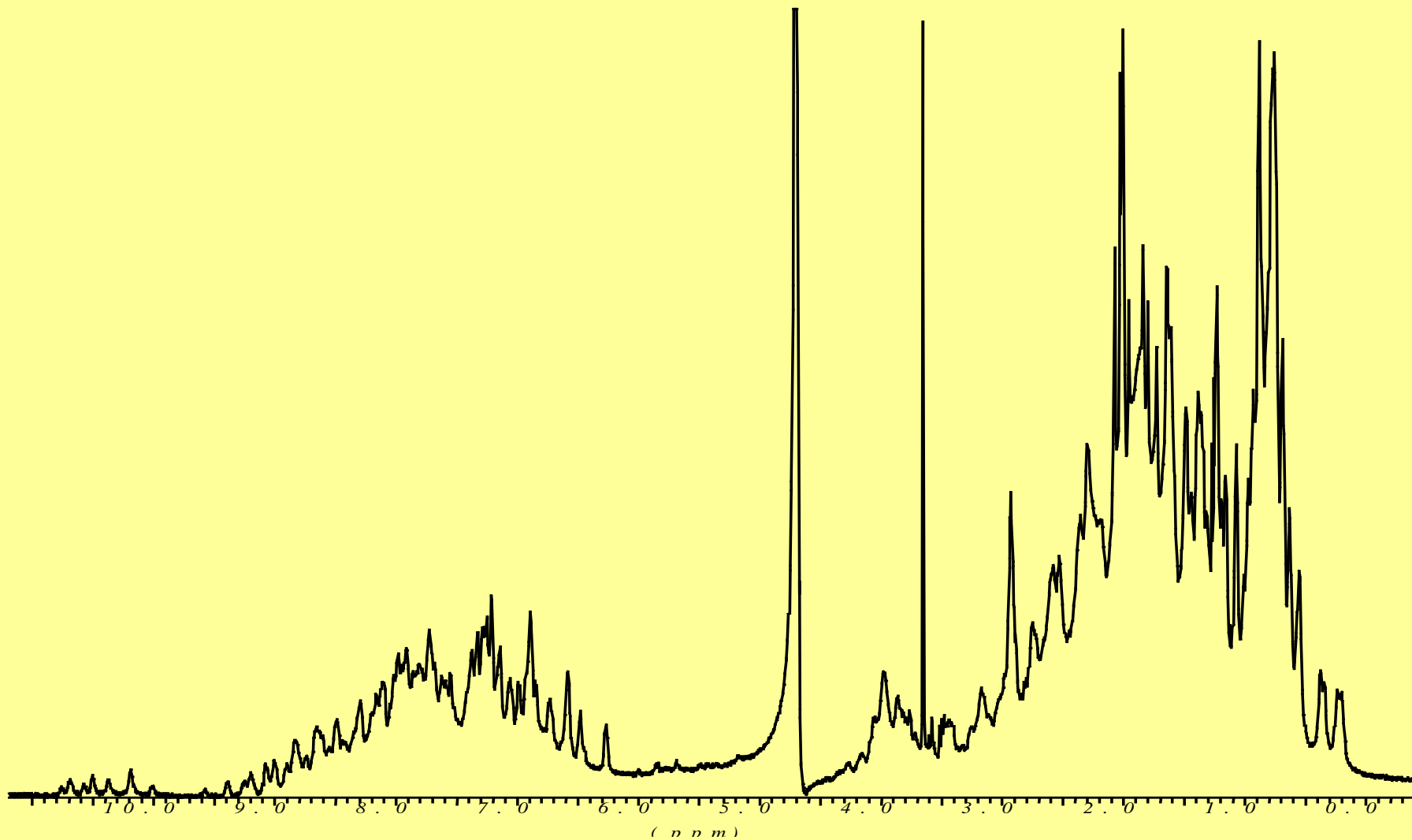
A spektrumban a J_{IS} okozta modulációtól eltekintünk

spinrendszerek azonosítása

Egy ~17 kDa globuláris fehérje

^1H -spektruma

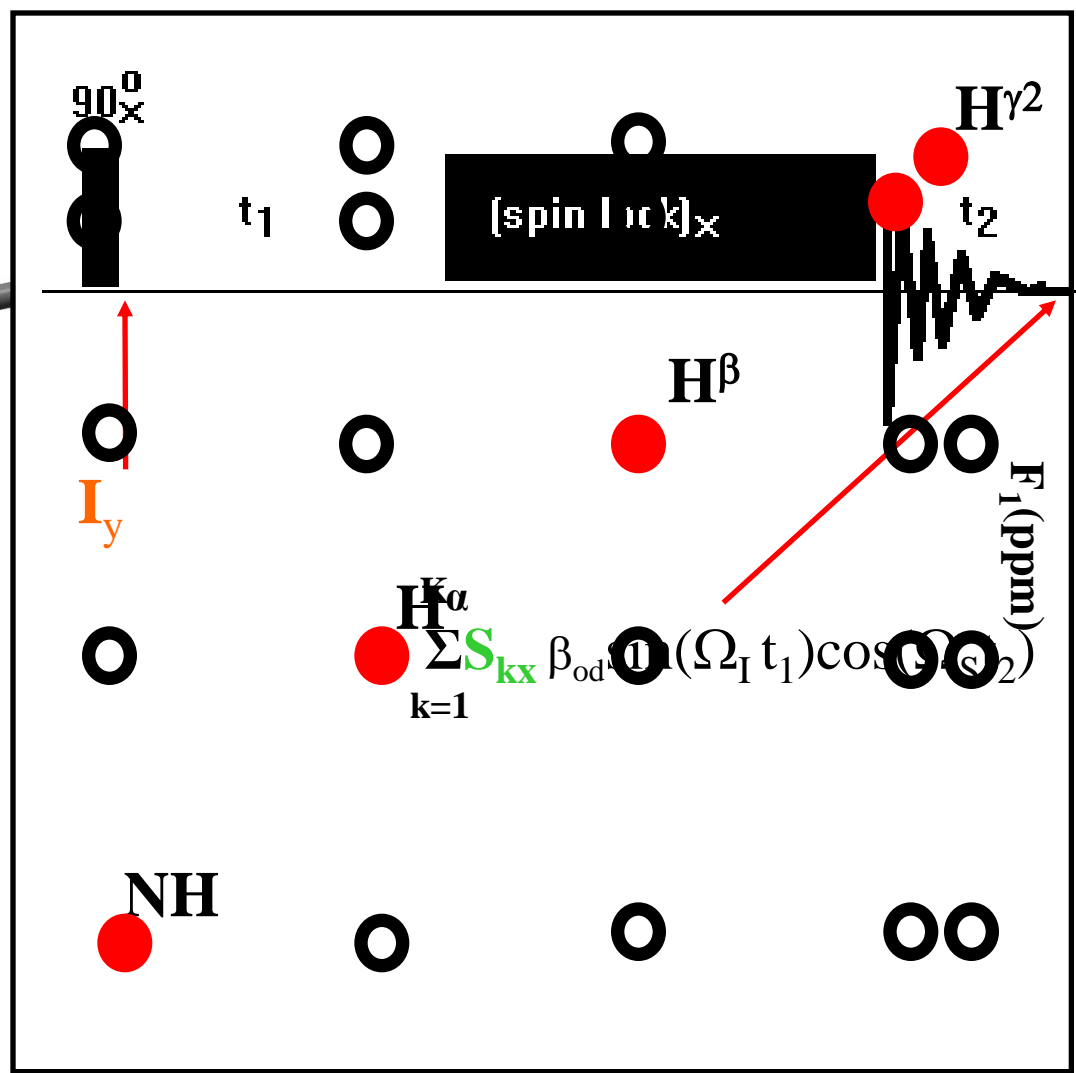
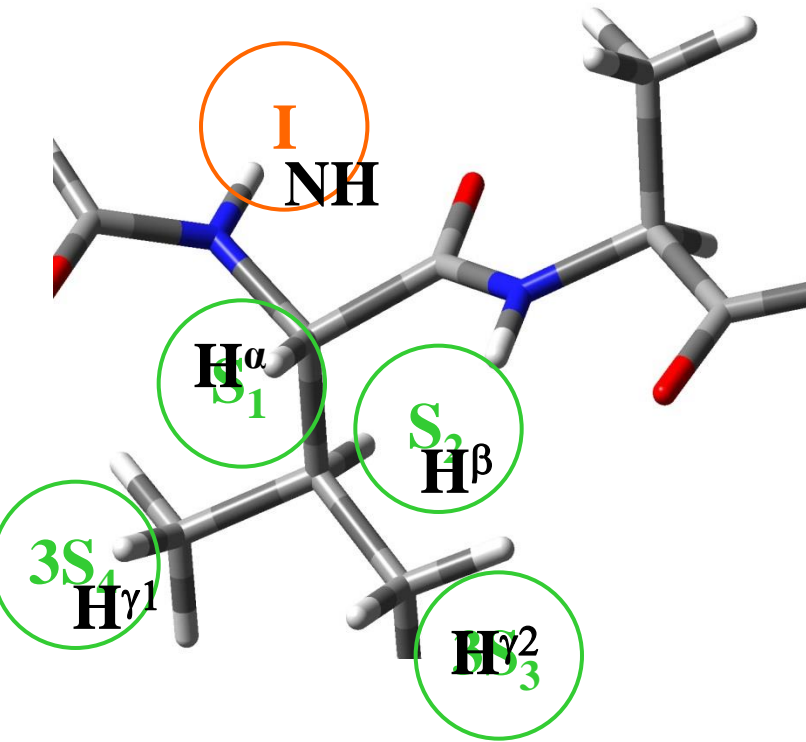
$\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ 9/1, $T=300\text{K}$, $c\approx 1\text{mM}$



spinrendszerek azonosítása

¹H-¹H TOCSY

protonok teljes korrelációját létrehozó spektrum

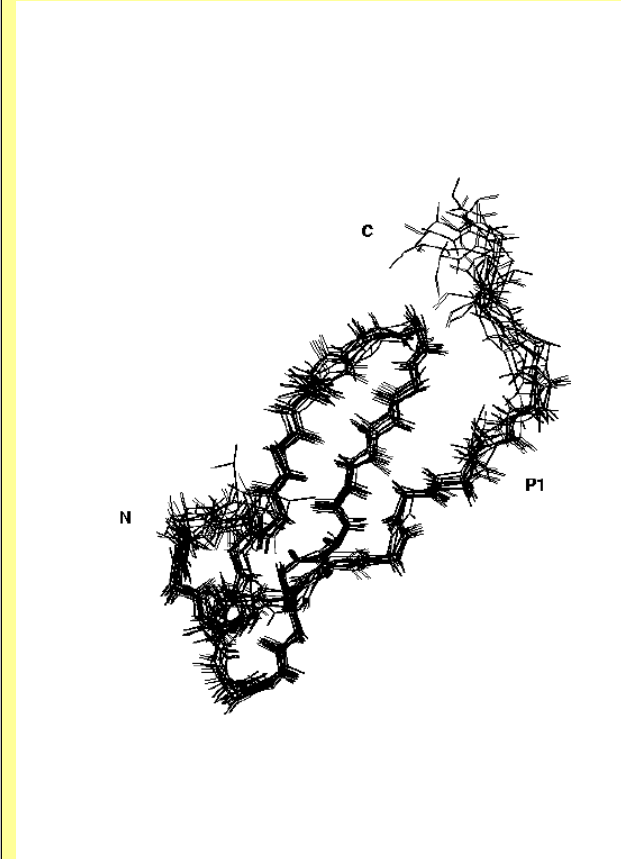
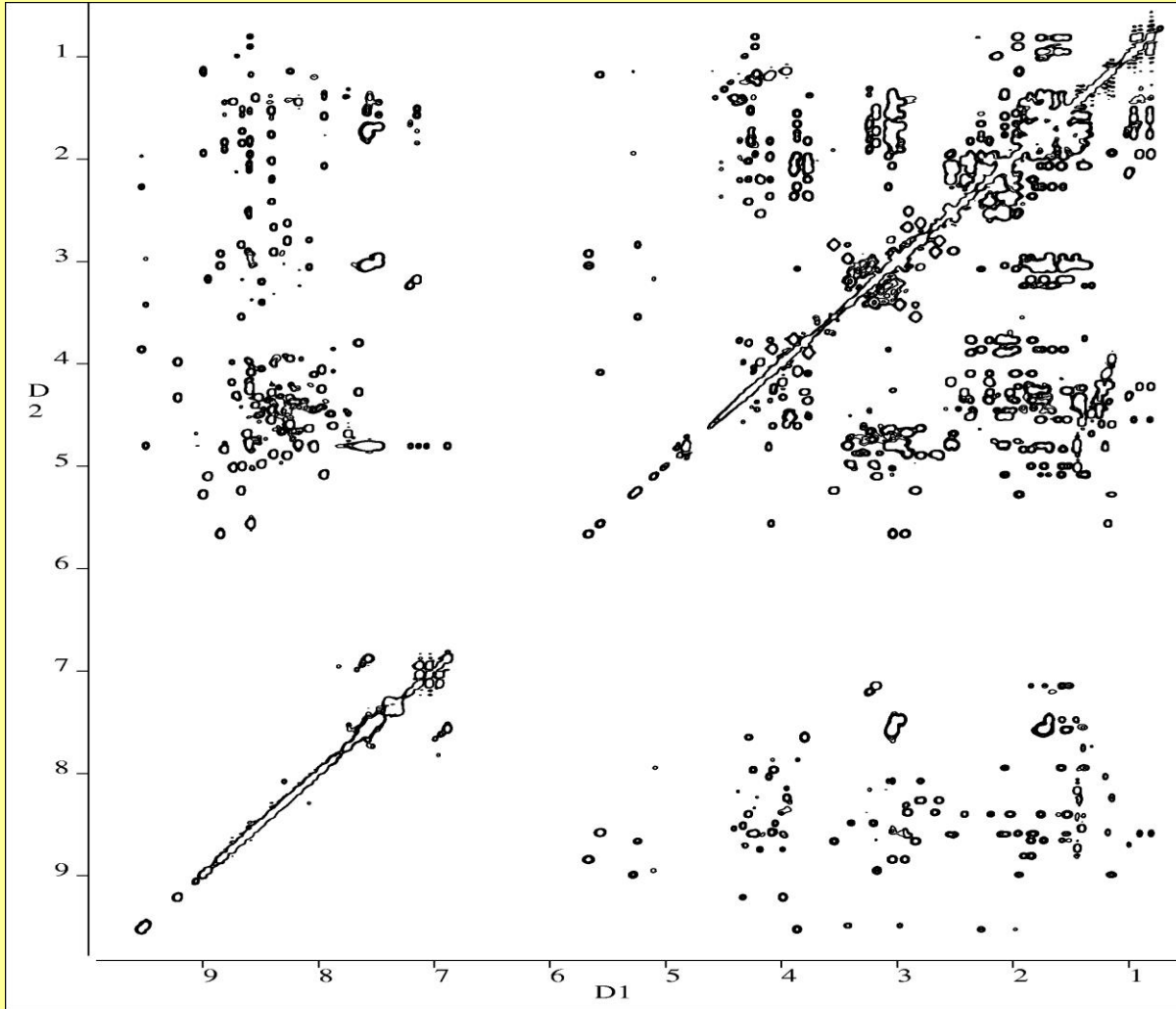


- diagonális jelek
- diagonálison kívüli jelek

$\beta_{od} = \text{diagonálison kívüli intenzitások}$

A spektrumban a J_{IS} okozta modulációtól eltekintünk

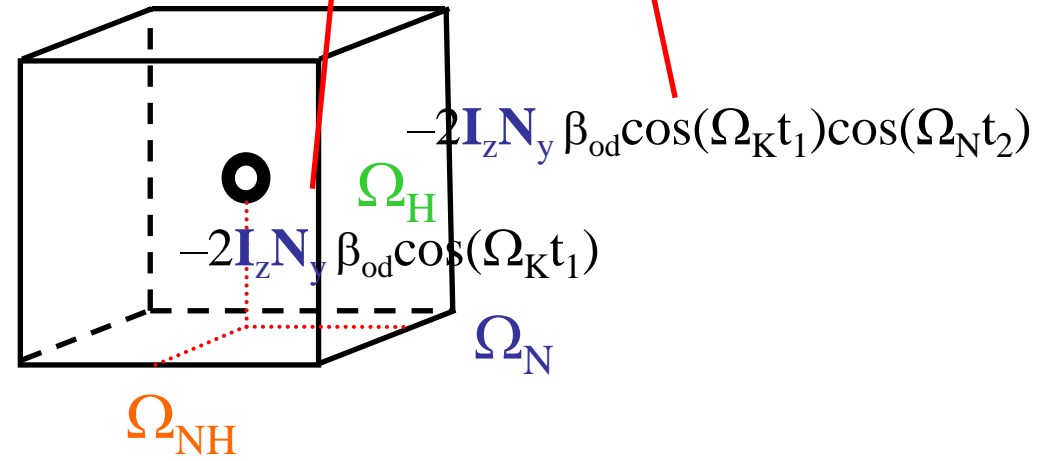
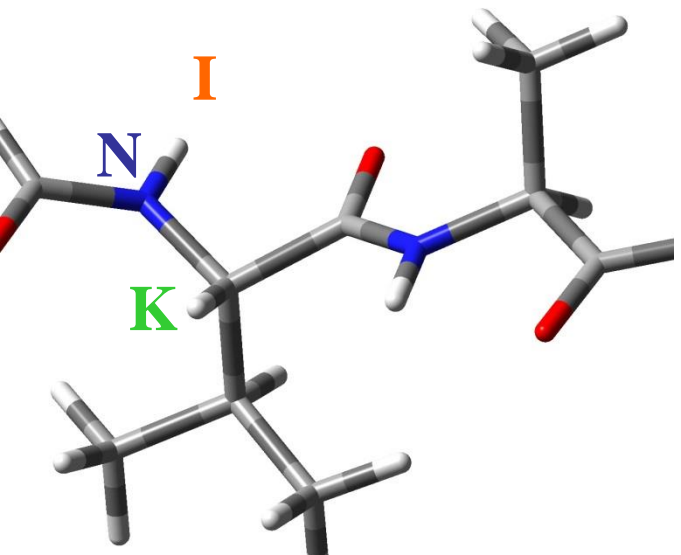
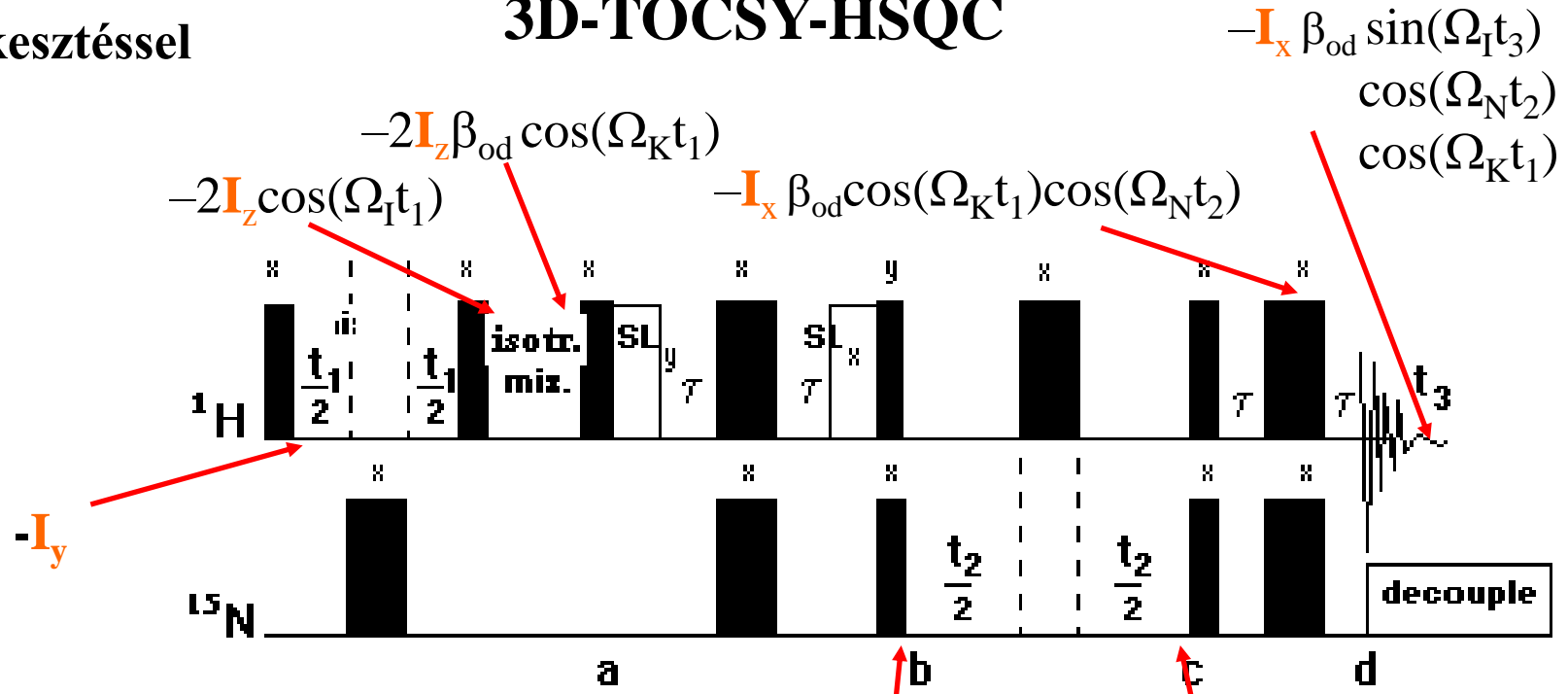
Fehérje modul ^1H - ^1H TOCSY spektruma



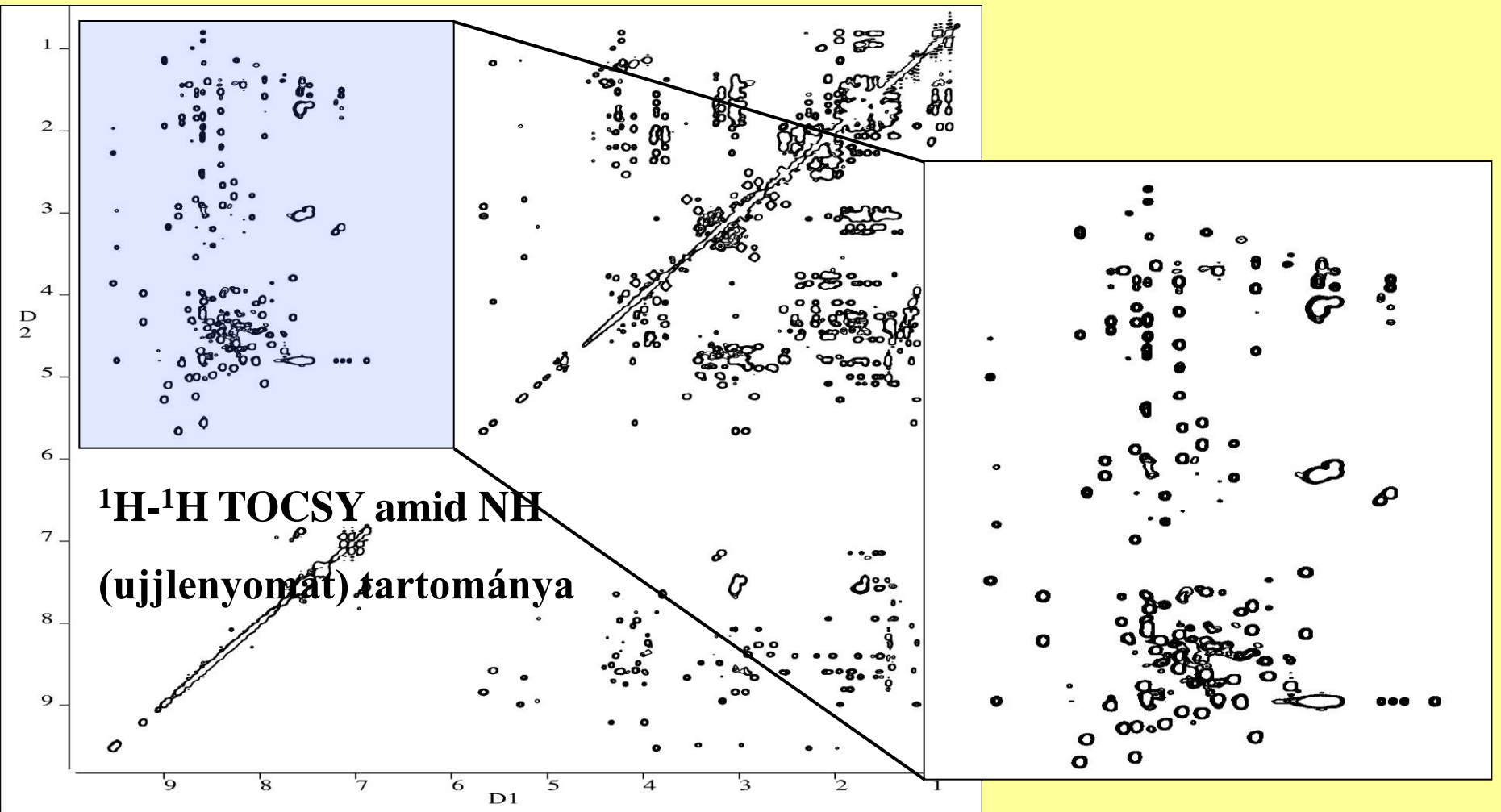
spinrendszerek azonosítása

¹⁵N-szerkesztéssel

3D-TOCSY-HSQC



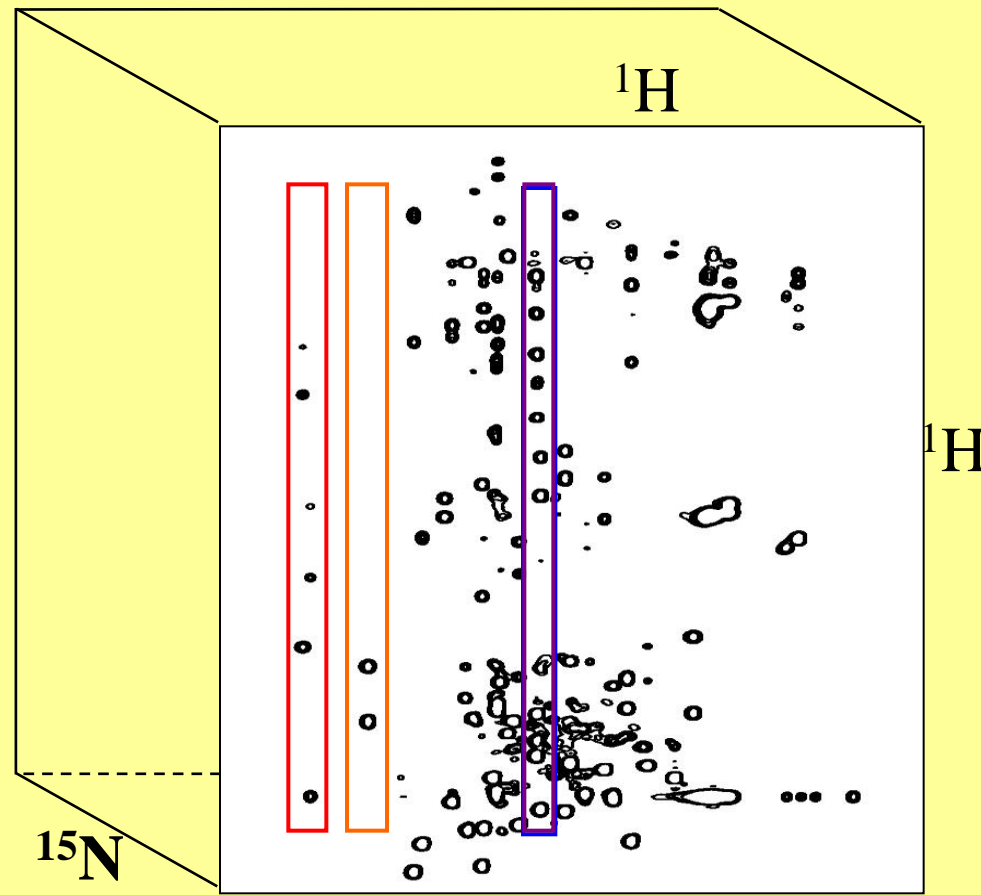
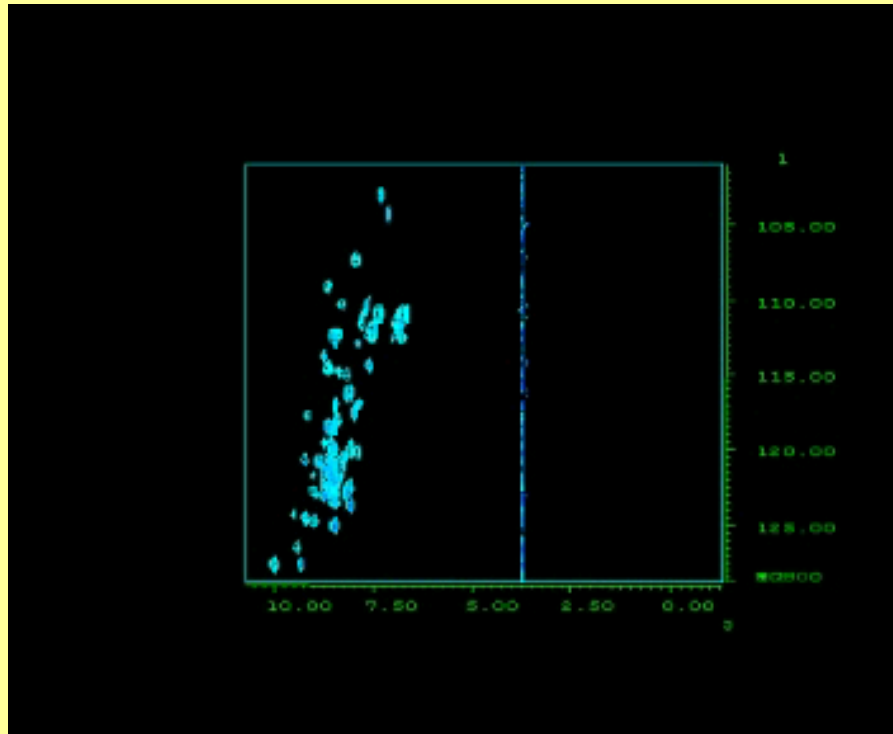
β_{od} = off diagonális intenzitás
 A J_{IK} okozta modulációtól eltekintünk



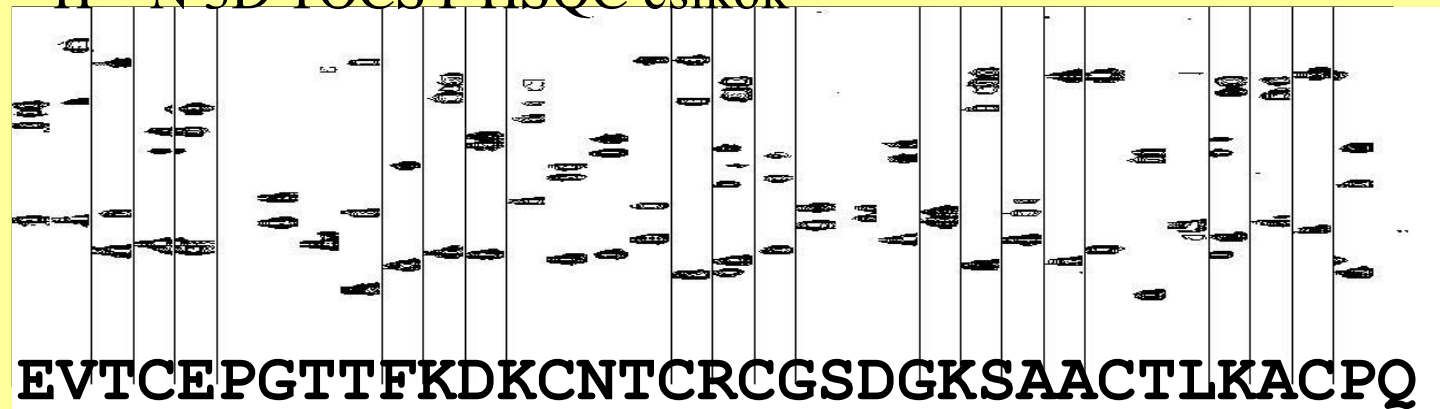
Homonukleáris 2D TOCSY

spinrendszerek azonosítása

^{15}N -szerkesztett 2D TOCSY



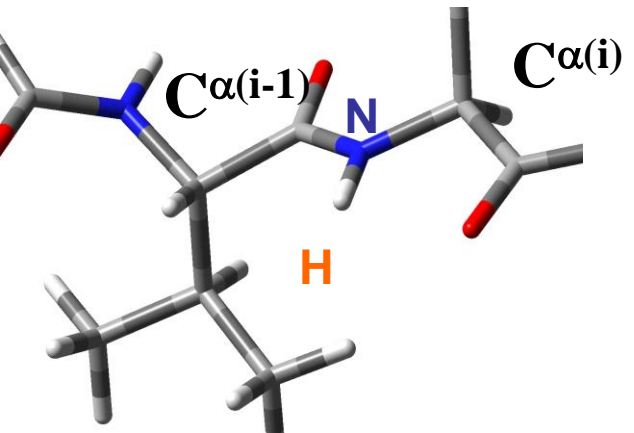
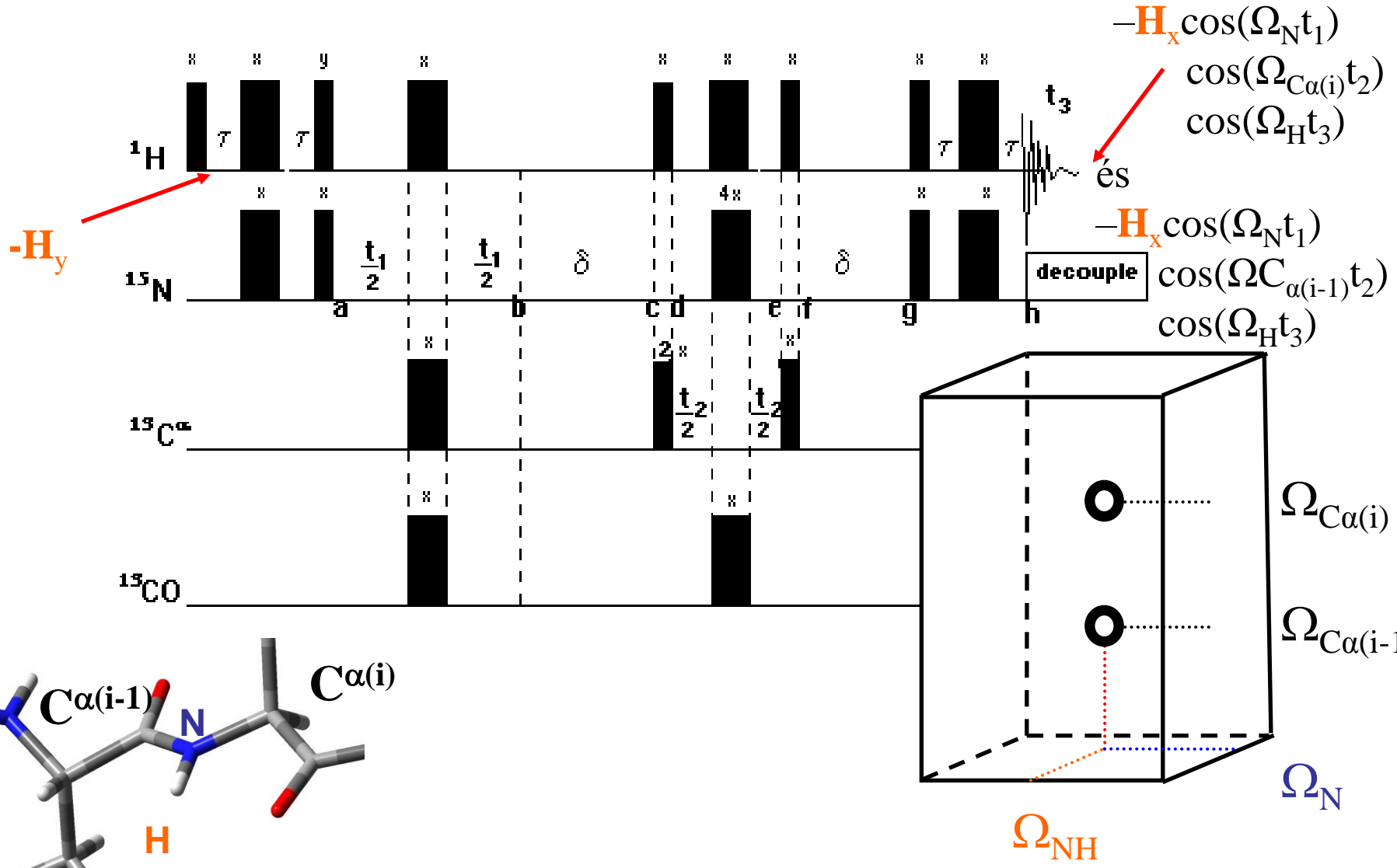
^1H - ^{15}N 3D TOCSY-HSQC csíkok



spinrendszerek azonosítása

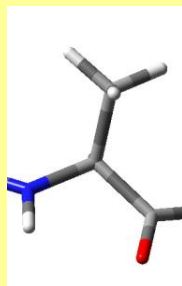
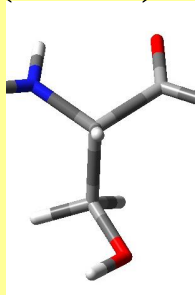
3D-HNCA

¹⁵N, ¹³C-szerkesztéssel



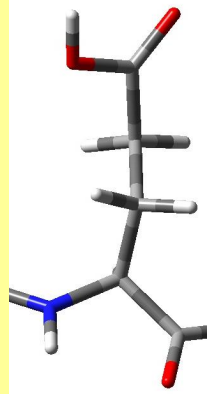
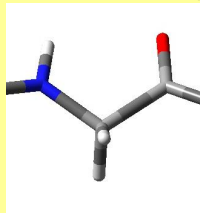
A skaláris csatolás okozta modulációtól eltekintünk

(AMX) Ser



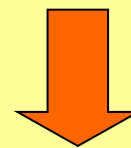
(A₃X) Ala

(AX) Gly

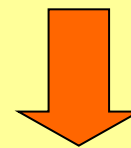


(A₂M₂X) Glu

**1. spinrendszerek
azonosítása**

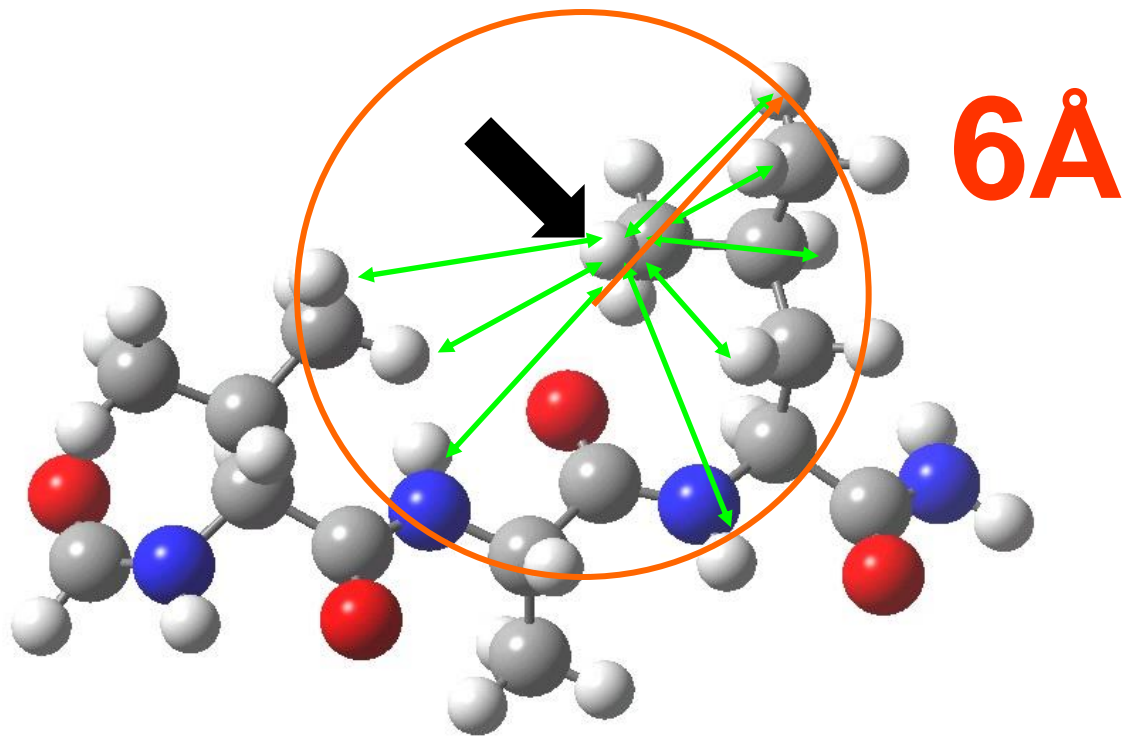


**2. spinrendszerek
szekvenciális
rendezése**



**3. kényszerfeltételek
alapján
szerkezetszámolás**

A szekvenciális hozzárendelés és a szerkezetszámolás alapja a nuklárís *Overhauser*- effektus (NOE)



6Å

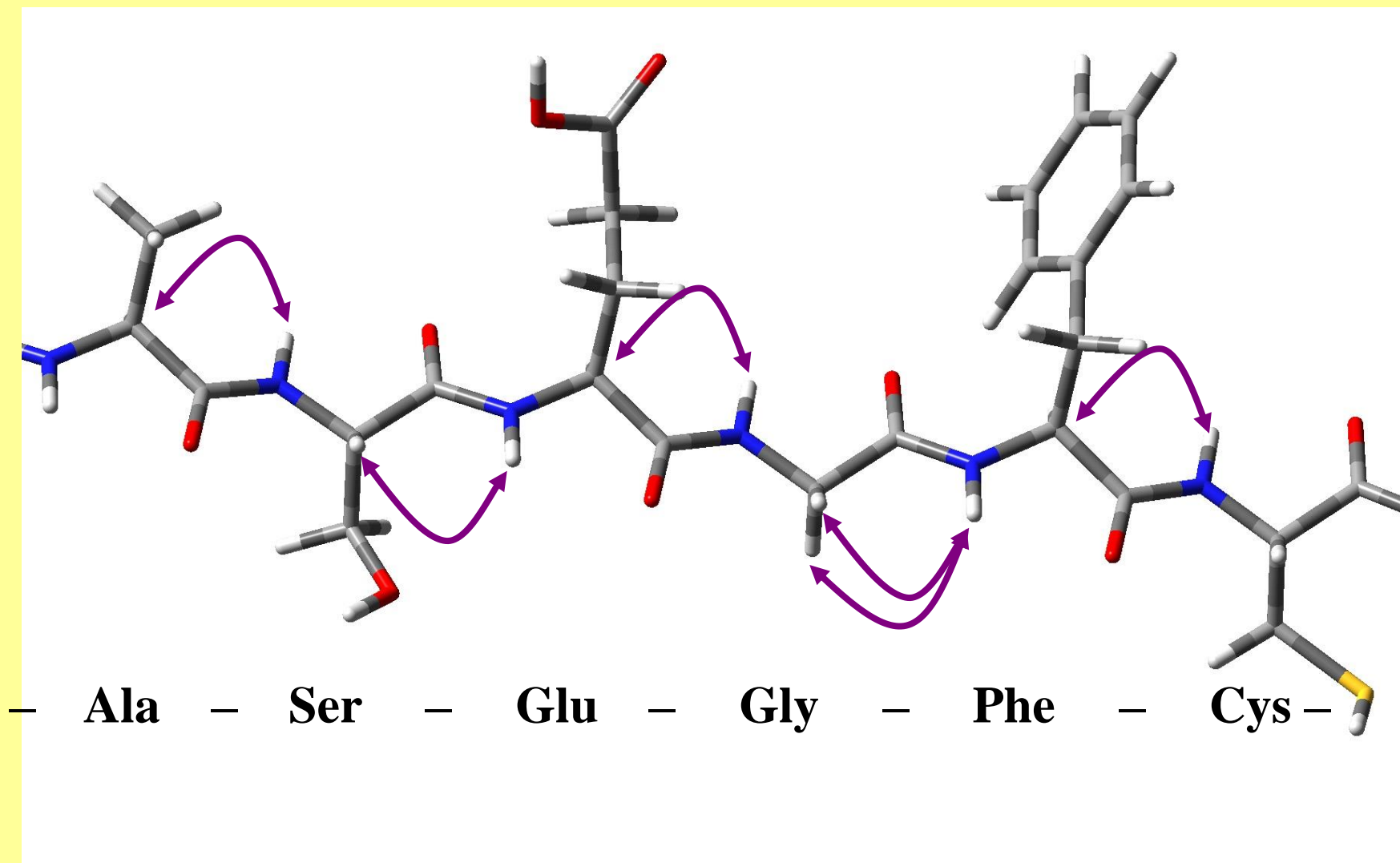
(NOE)



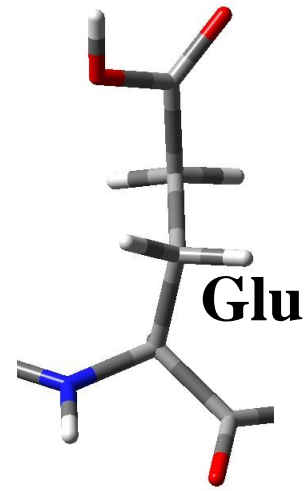
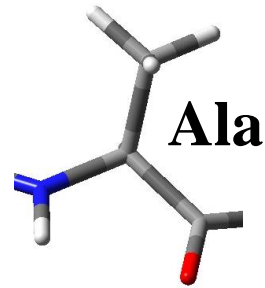
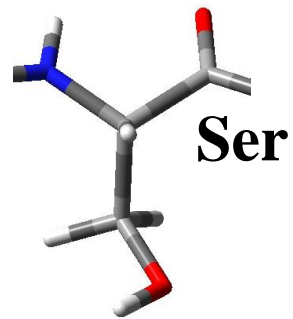
Távolság jellegű adatok

spinrendszerek szekvenciális rendezése

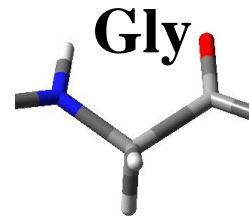
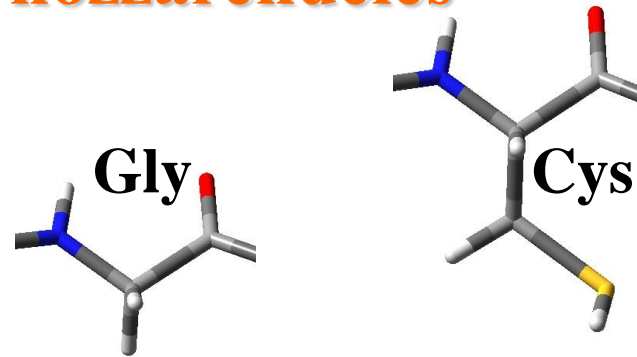
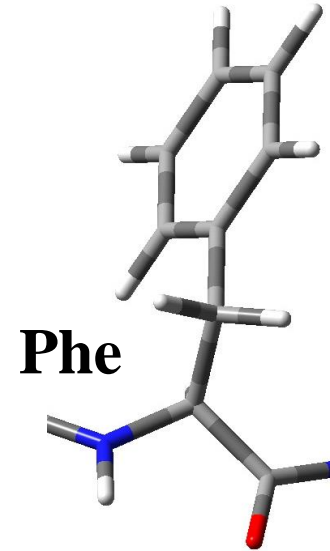
A spinrendszerek szekvenciális rendezését
biztosító $H^{\alpha}_{i-1}-H^{NH}_i$ NOE-k



spinrendszerek szekvenciális rendezése



**A szekvenciális
hozzárendelés**



Ala

Ser

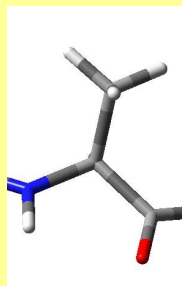
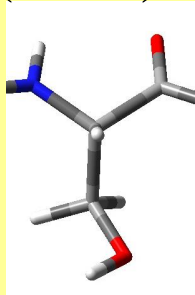
Glu

Gly

Phe

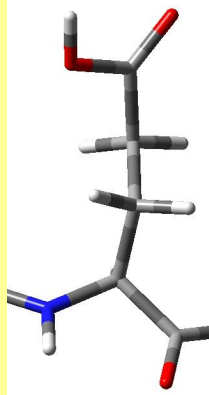
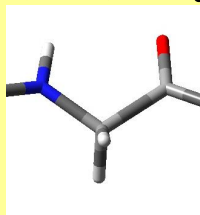
Cys

(AMX) Ser



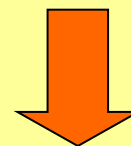
(A₃X) Ala

(AX) Gly

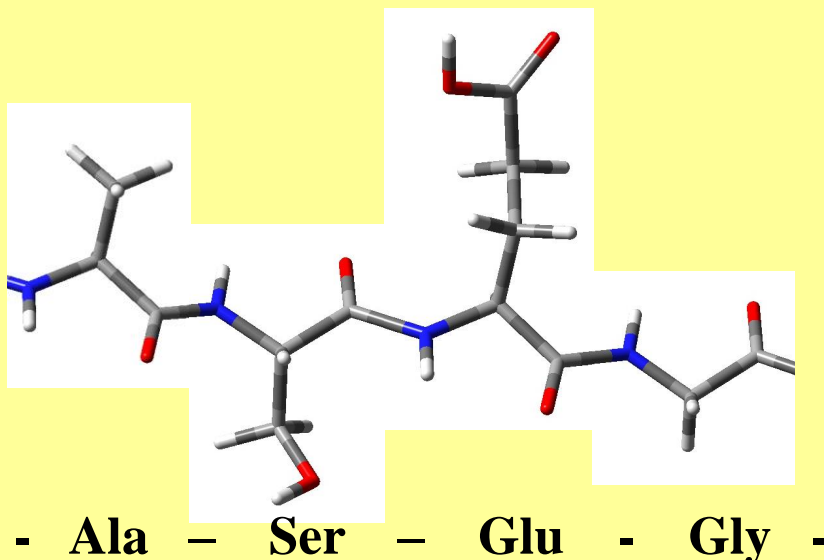
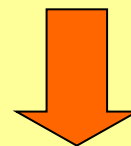


(A₂M₂X) Glu

**1. spinrendszerek
azonosítása**

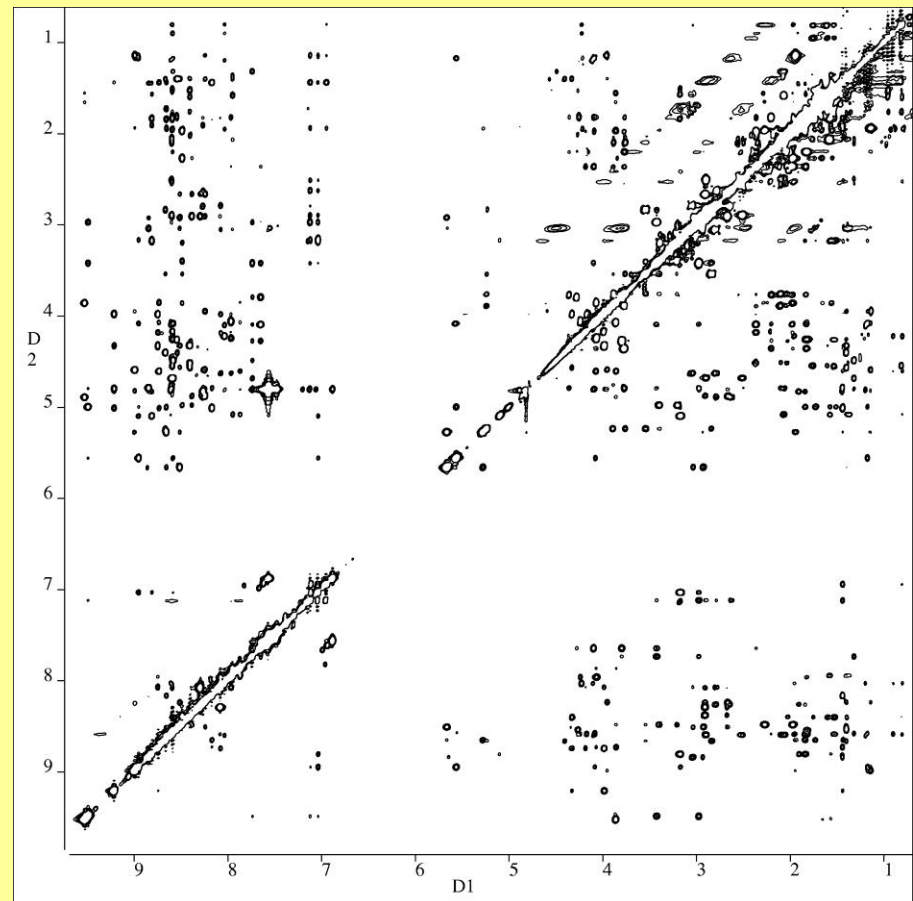
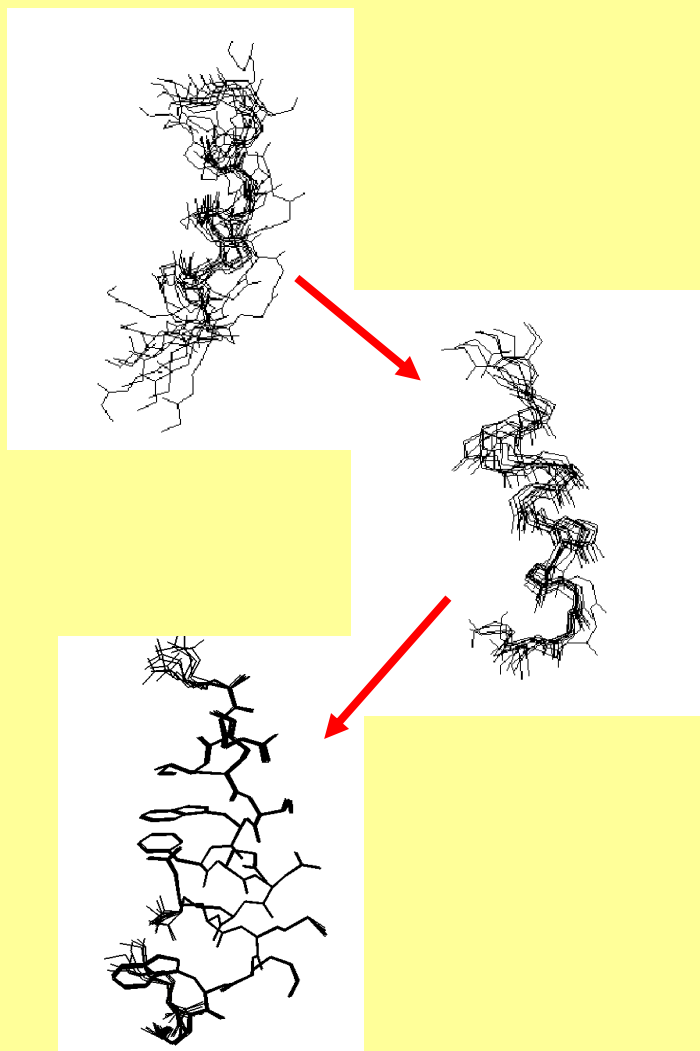


**2. spinrendszerek
szekvenciális
rendezése**



**3. kényszerfeltételek
alapján
szerkezetszámolás**

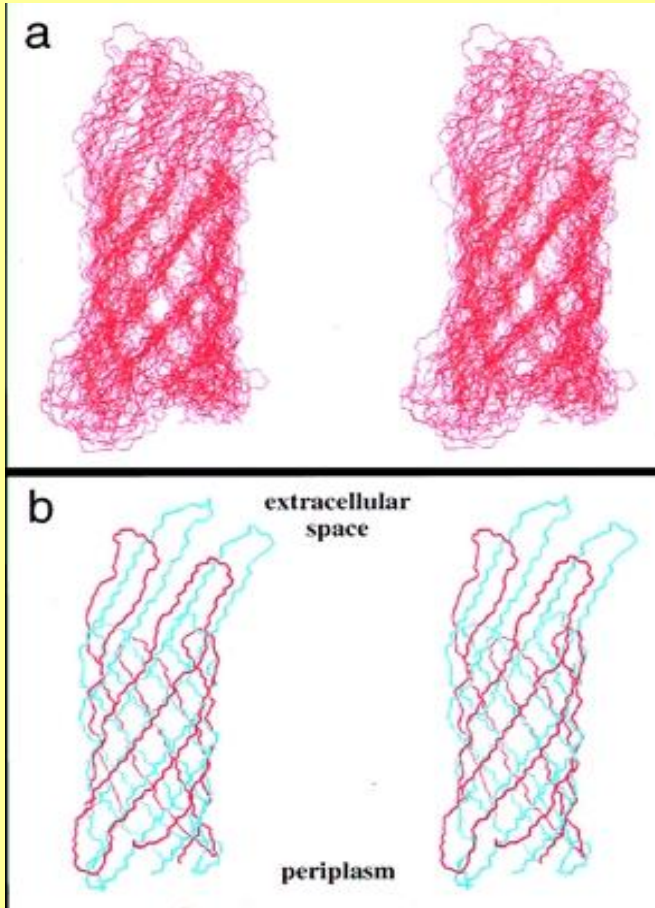
Fehérje modul ^1H - ^1H NOESY spektruma



Fehérjék NMR-szerkezetvizsgálata



**Kurt Wüthrich
(ETH, Zürich)**

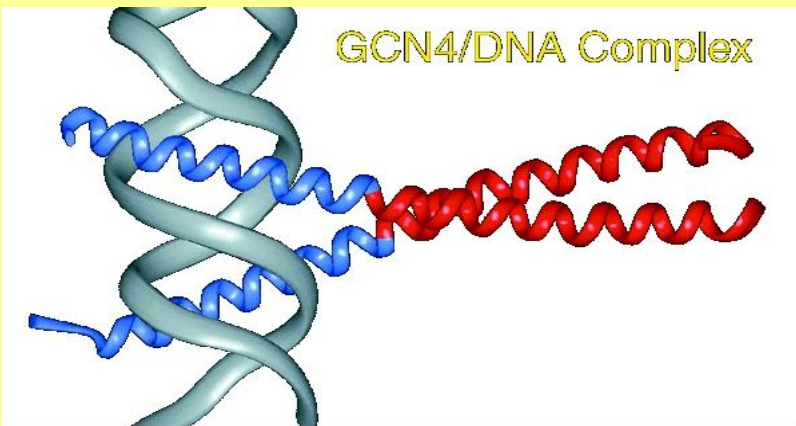


OmpX bakteriális
membránfehérje
térszerkezete



Mozgékony
szekvenciárésszel
rendelkező prion fehérje

Biomolekulák dinamikai vizsgálatára

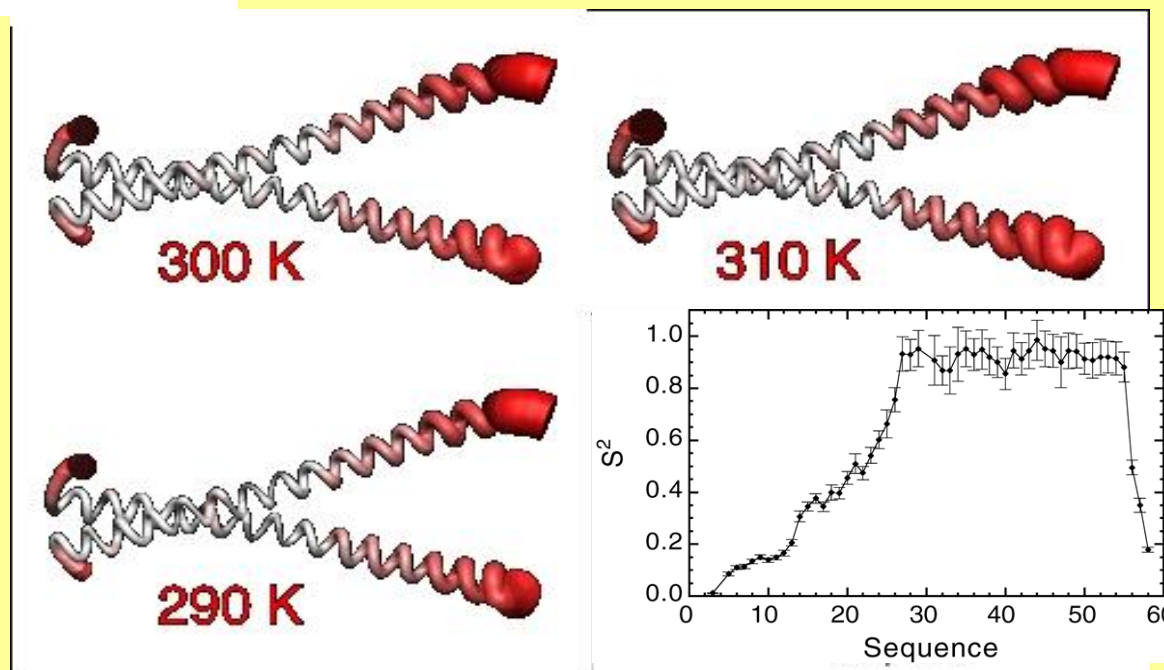


10 20
MKDPAALKRARNTEAARRSRARKLQRMKQ
30 40 50
LEDKVEELLSKNYHLENEVARLKKLVGER

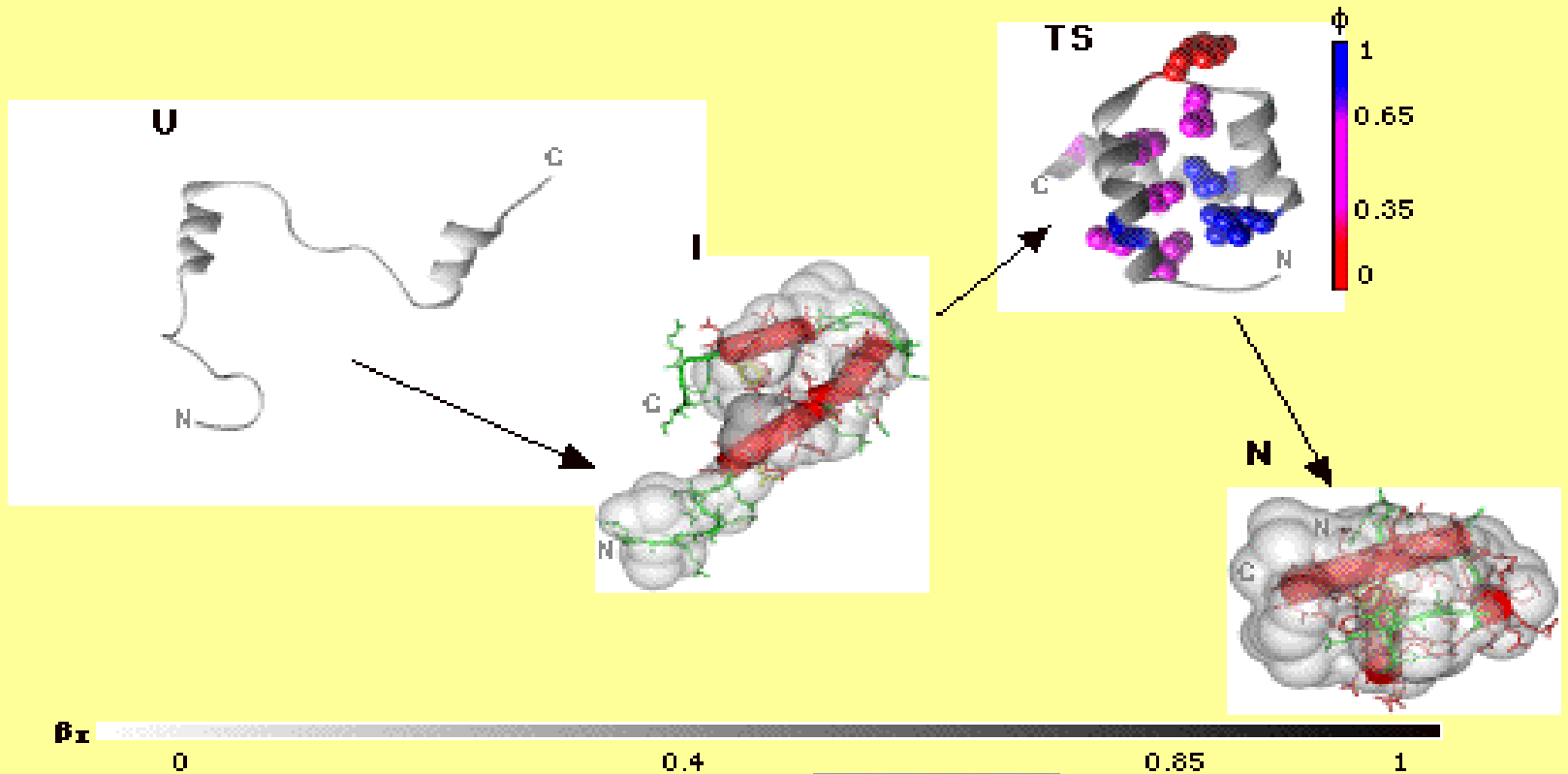
GCN4 élesztő
transzkripció faktor
gerinc-dinamikájának
vizsgálata



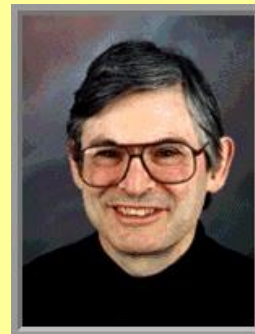
Arthur G. Palmer III
(Columbia University)



Fehérje feltekeredés vizsgálatok (*ns* és *ms* időskálán)



Alan Fersht
(Cambridge University)



A proteomika és a szerkezeti genomika korában
Köszönöm megtisztelő figyelmüket!
az NMR-spektroszkópia jelentősége tovább nő!

*„És ha nem láthatunk már többet, szálljon tovább a képzeletünk.
Képzeletünk elfáradt, de a természet kimeríthetetlenül gazdag marad...”*

PASCAL: Gondolatok

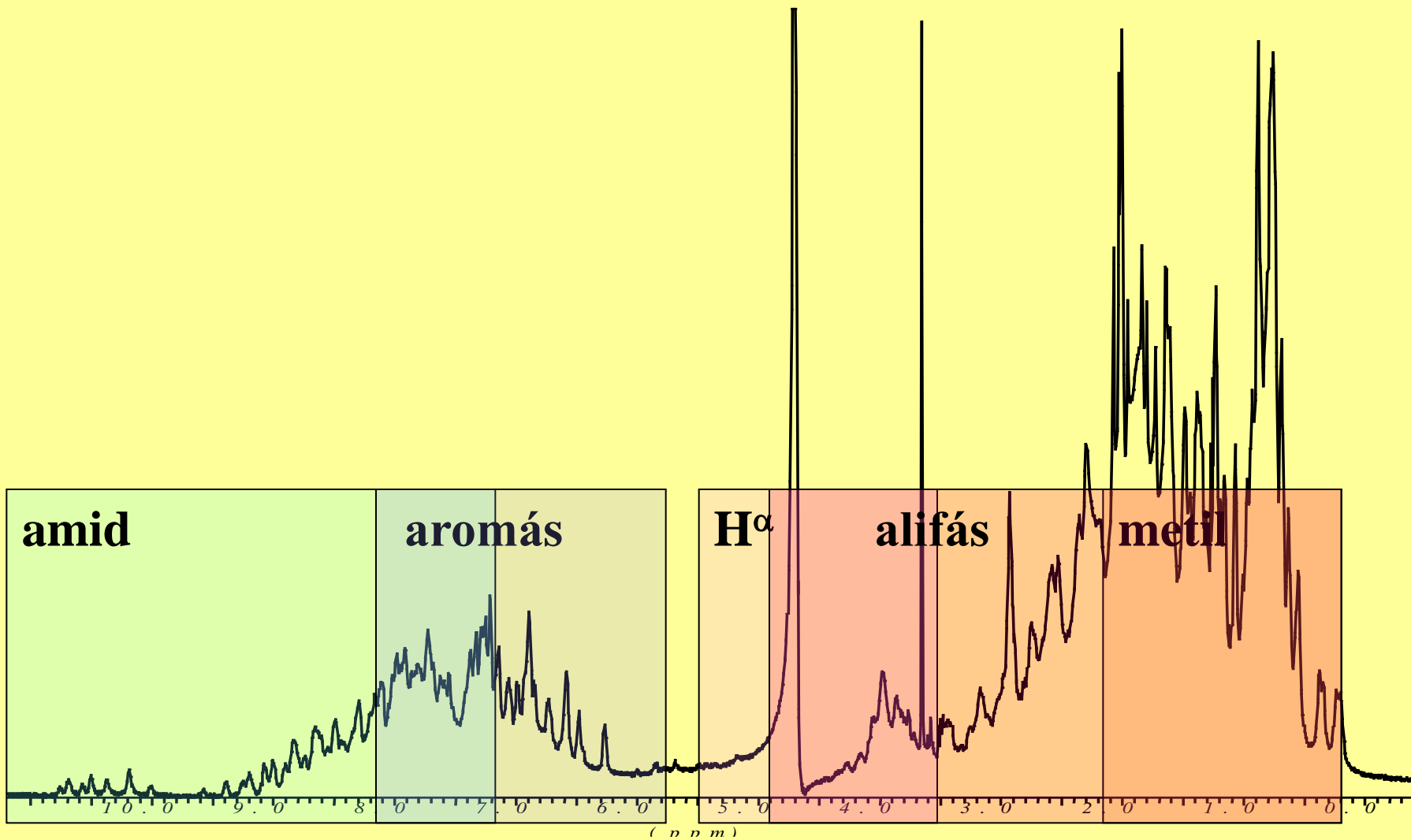
**A részletesebb és a csatolási tényezőt is
tartalmazó képek**

spinrendszerek azonosítása

Egy ~17 kDa globuláris fehérje

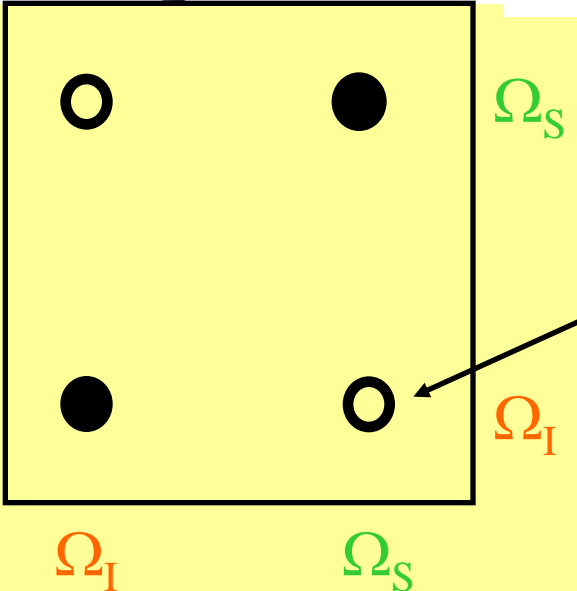
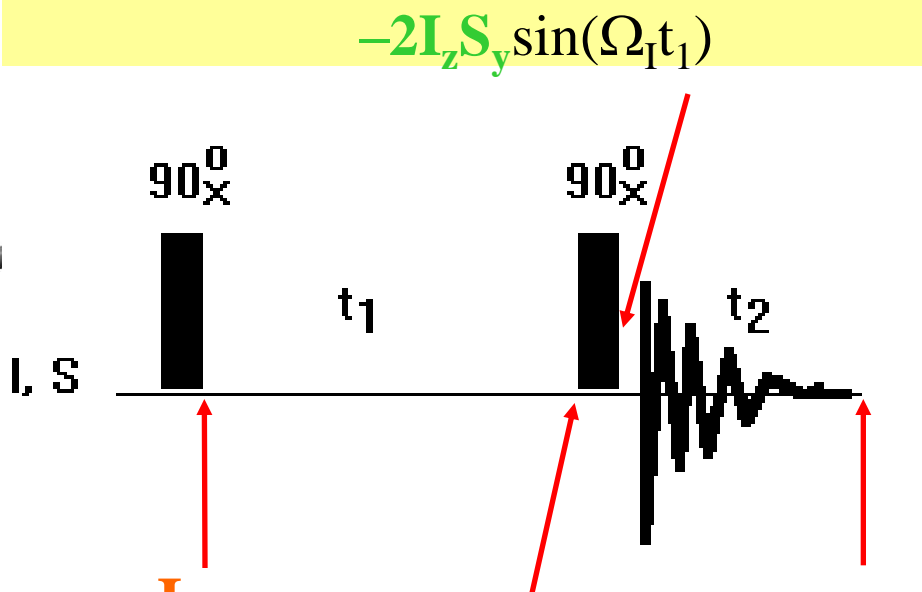
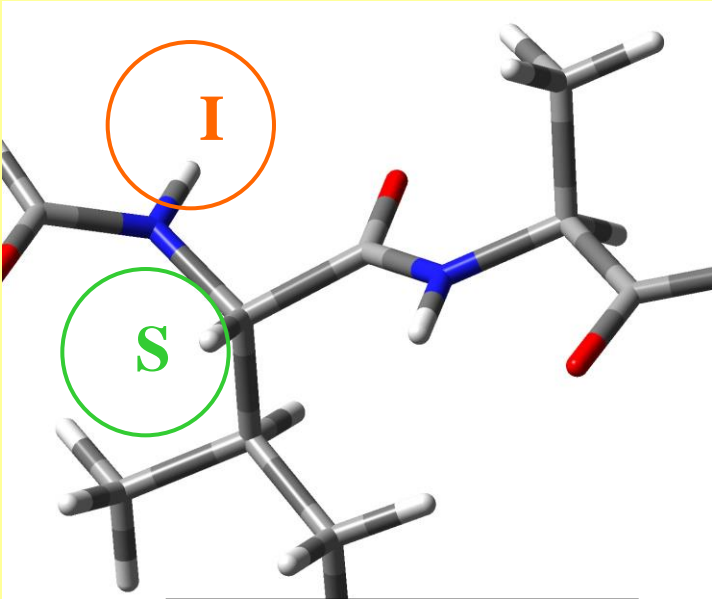
^1H -spektruma

$\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ 9/1, $T=300\text{K}$, $c\approx 1\text{mM}$



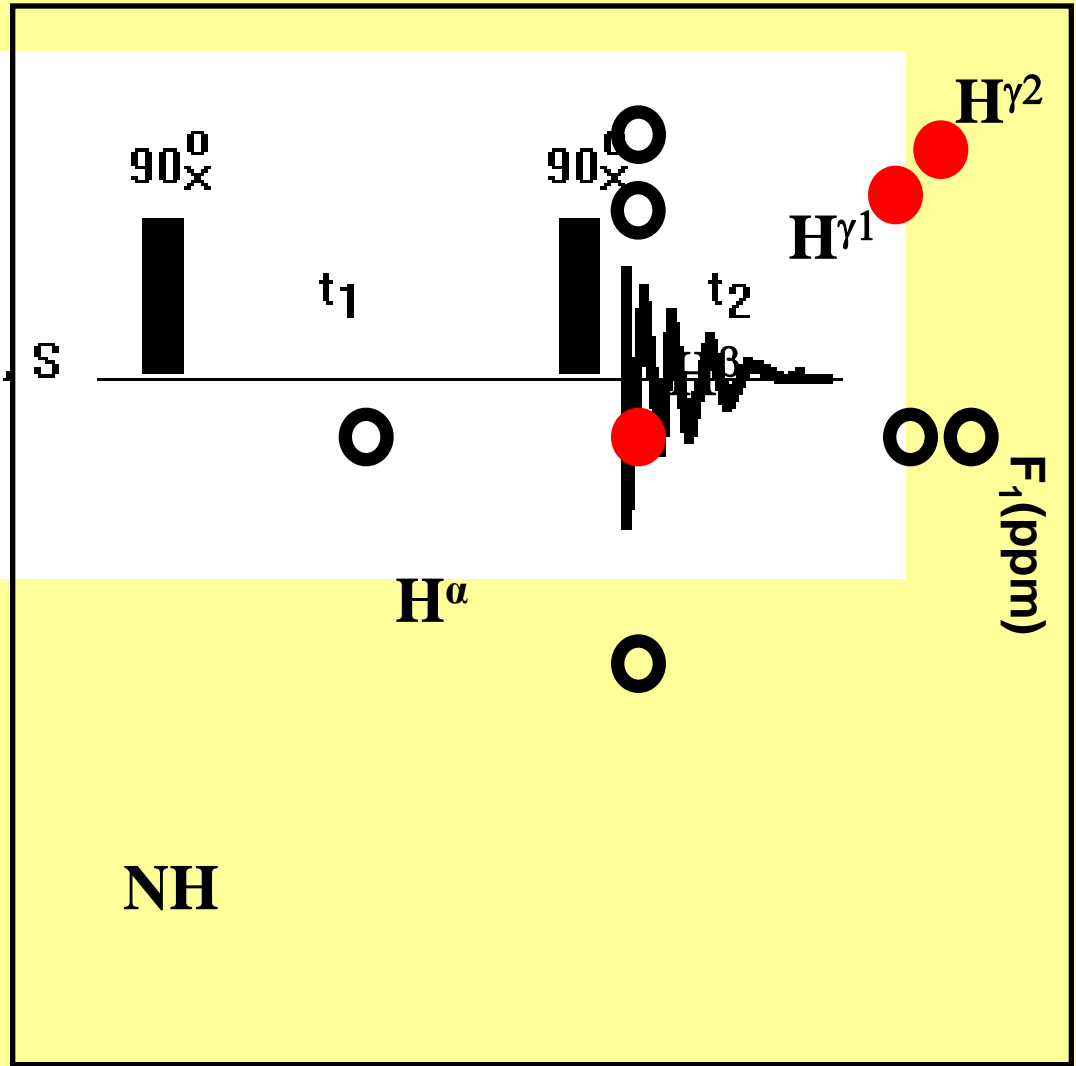
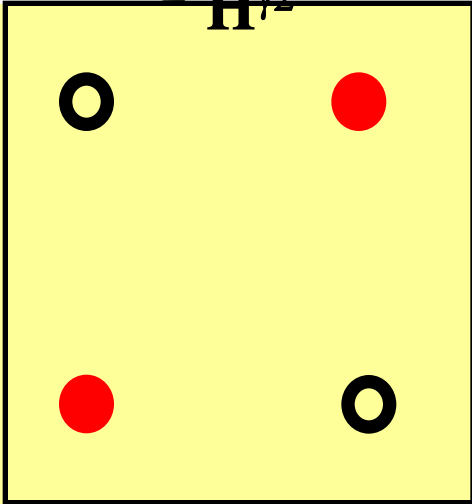
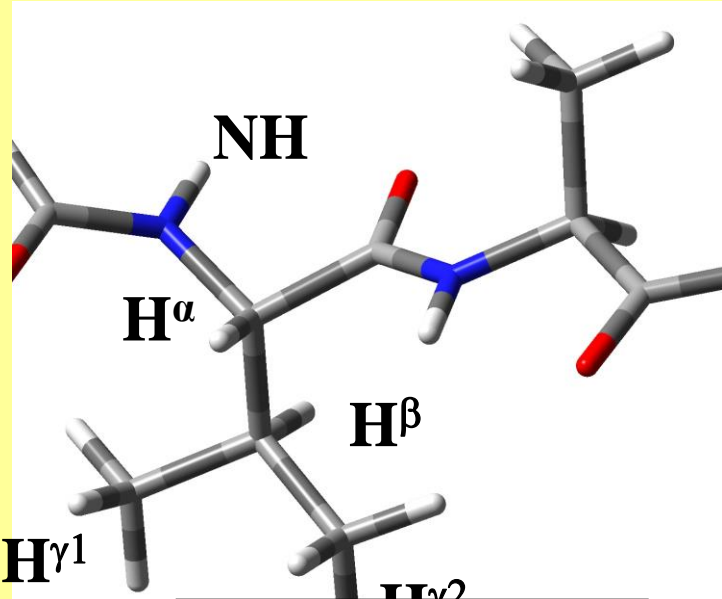
spinrendszerek azonosítása

¹H-¹H COSY
(homonukleáris korrelációs spektrum)



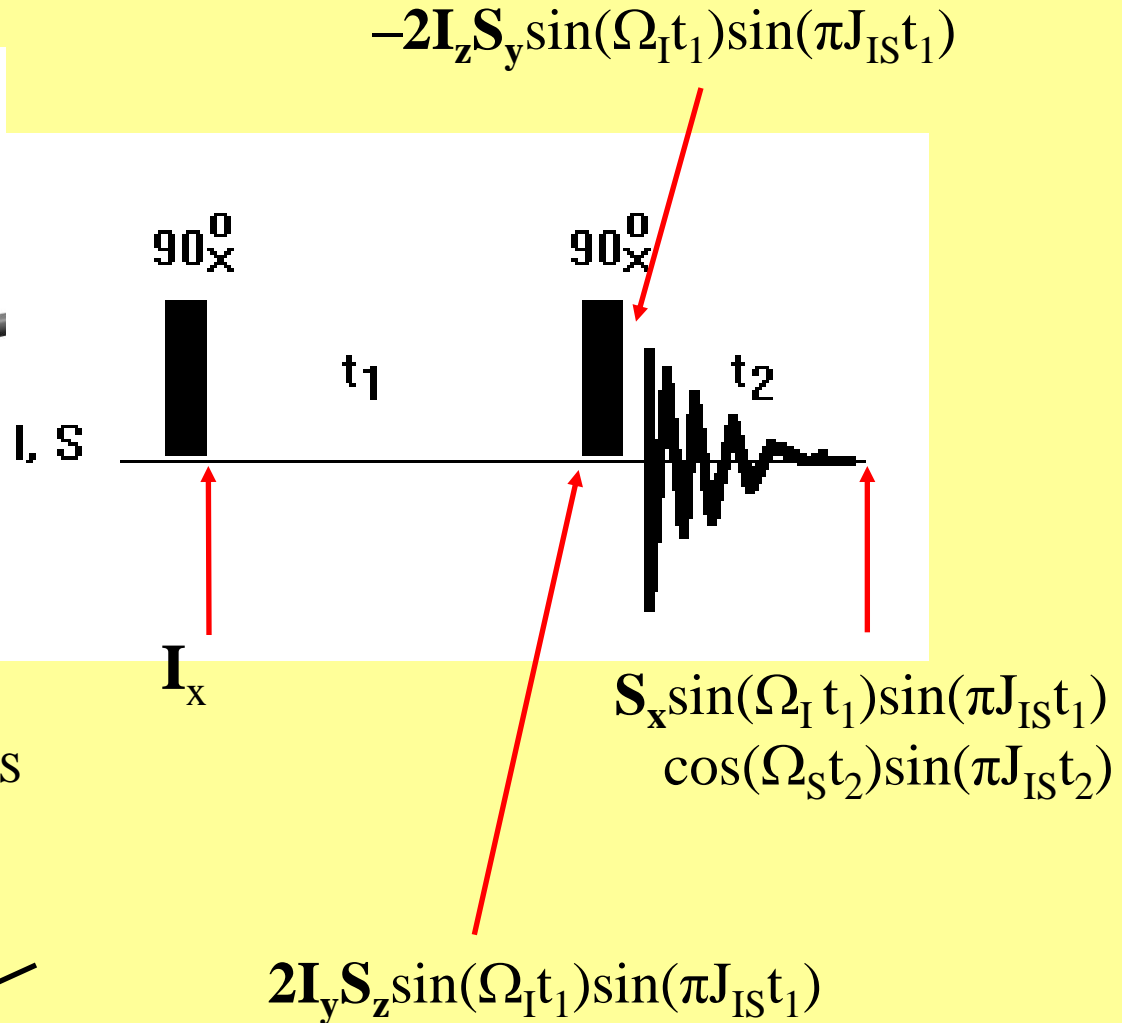
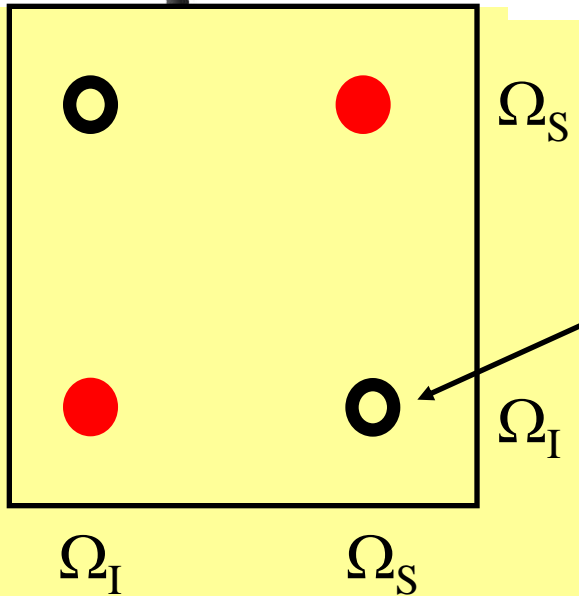
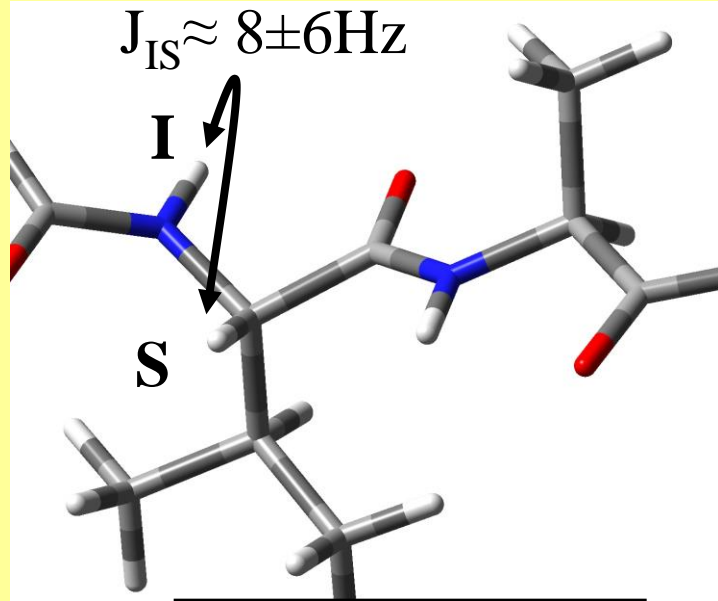
$2I_y S_z \sin(\Omega_I t_1)$

$S_x \sin(\Omega_I t_1) \cos(\Omega_S t_2)$



A spektrumban a J_{IS} okozta modulációtól eltekintünk

^1H - ^1H COSY (homonukleáris korrelációs spektrum)



$$-I_x a_{II} \cos(\Omega_I t_1) \cos(\pi J_{IK} t_1) \cos(\Omega_N t_2)$$

és

$$-I_x a_{IK} \cos(\Omega_K t_1) \cos(\pi J_{IK} t_1) \cos(\Omega_N t_2)$$

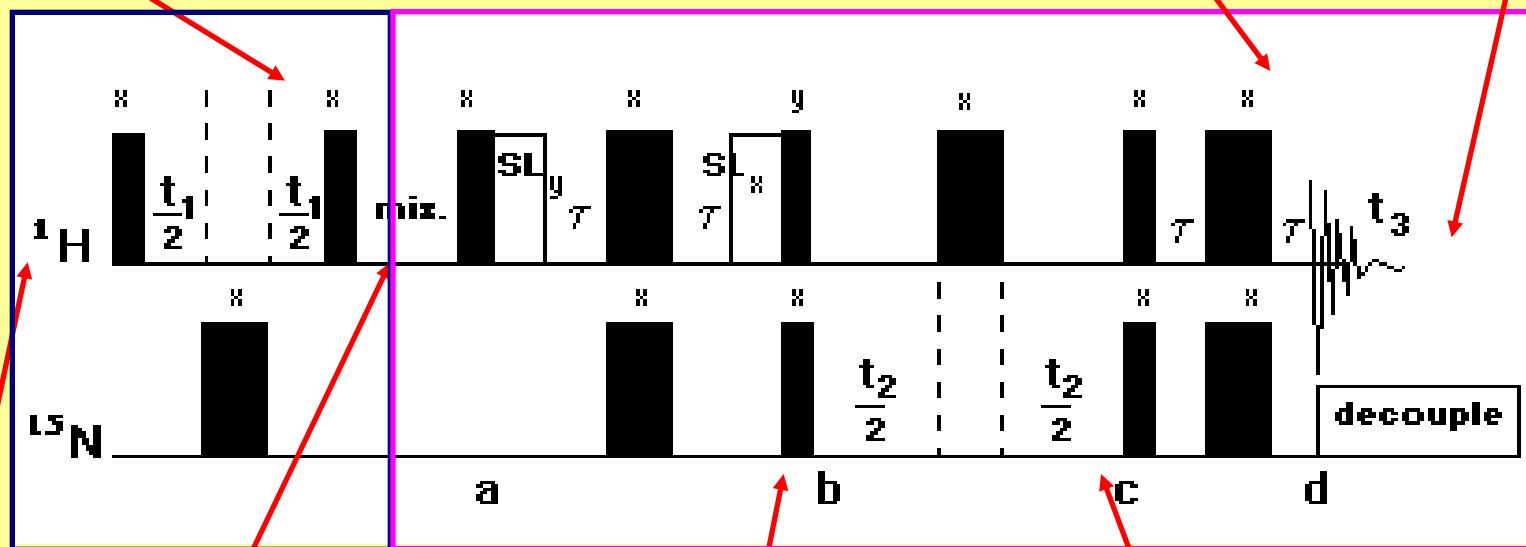
$$-I_x a_{IK} \cos(\Omega_K t_1) \cos(\pi J_{IK} t_1)$$

$$\sin(\Omega_I t_3) \cos(\pi J_{IK} t_3)$$

$$\cos(\Omega_N t_2)$$

$$-2I_z \cos(\Omega_I t_1) \cos(\pi J_{IK} t_1)$$

3D-NOESY-HSQC



I_z

$$-2I_z a_{II} \cos(\Omega_I t_1) \cos(\pi J_{IK} t_1)$$

és

$$-2I_z a_{IK} \cos(\Omega_K t_1) \cos(\pi J_{IK} t_1)$$

$$-2I_z N_y a_{II} \cos(\Omega_I t_1) \cos(\pi J_{IK} t_1) \cos(\Omega_N t_2)$$

és

$$-2I_z N_y a_{IK} \cos(\Omega_K t_1) \cos(\pi J_{IK} t_1) \cos(\Omega_N t_2)$$

$$-2I_z N_y a_{II} \cos(\Omega_I t_1) \cos(\pi J_{IK} t_1)$$

és

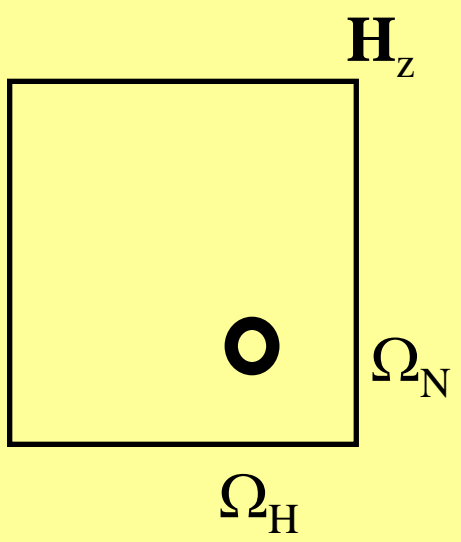
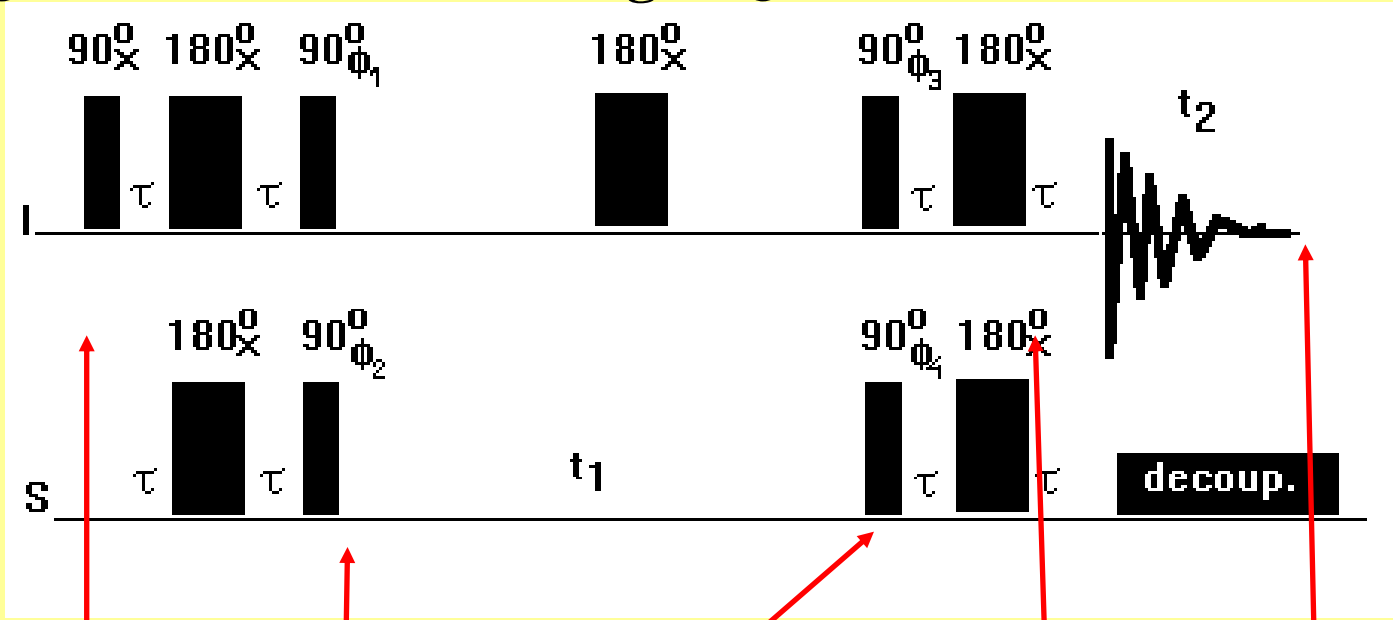
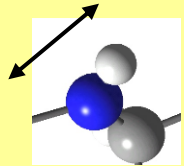
$$-2I_z N_y a_{IK} \cos(\Omega_K t_1) \cos(\pi J_{IK} t_1)$$

spinrendszerek azonosítása

Heteronukleáris egyszeres-kvantum koherencia spektrum

HSQC = Heteronuclear Single-Quantum Coherence

$1,1J \sim 90\text{Hz}$



$$-2H_z N_y + 2H_z N_y \cos(\Omega_N t_1)$$

$$H_x \cos(\Omega_N t_1)$$

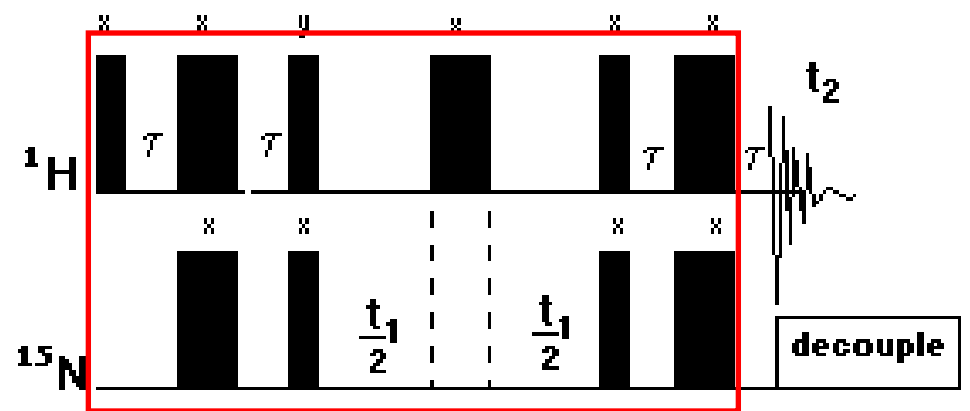
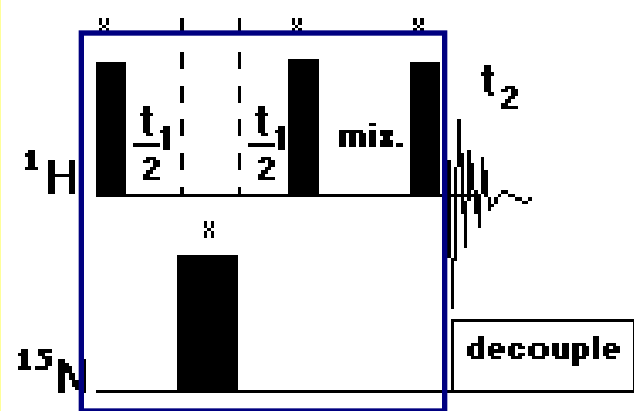
$$H_x \cos(\Omega_N t_1) \cos(\Omega_H t_2)$$

spinrendszerek azonosítása

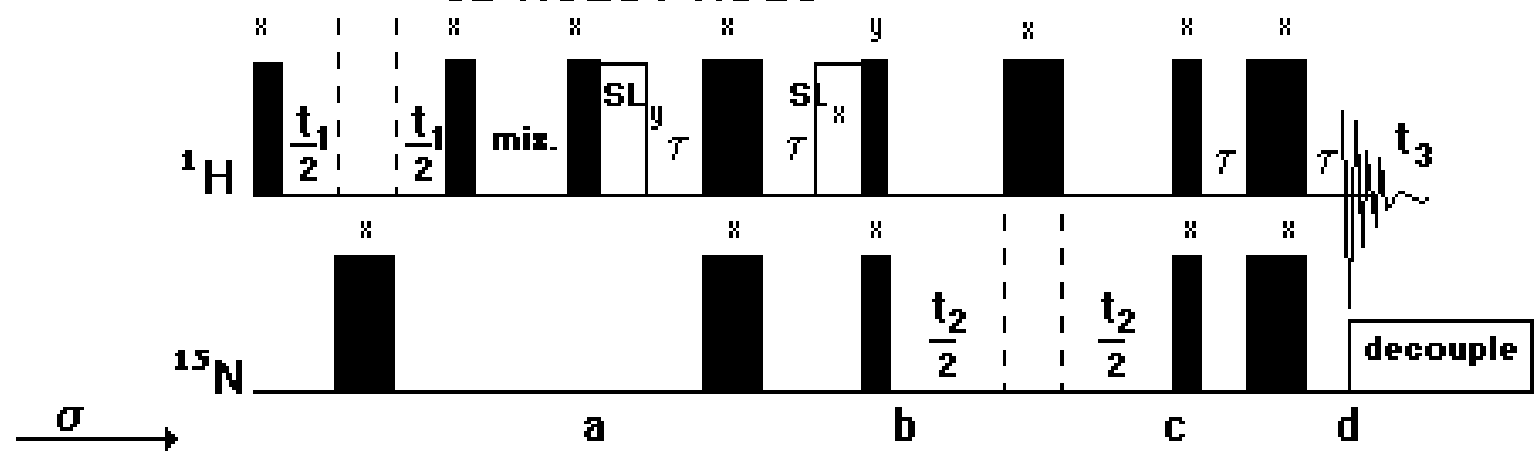
3D-NOESY-HSQC

2D NOESY

2D HSQC



3D NOESY-HSQC

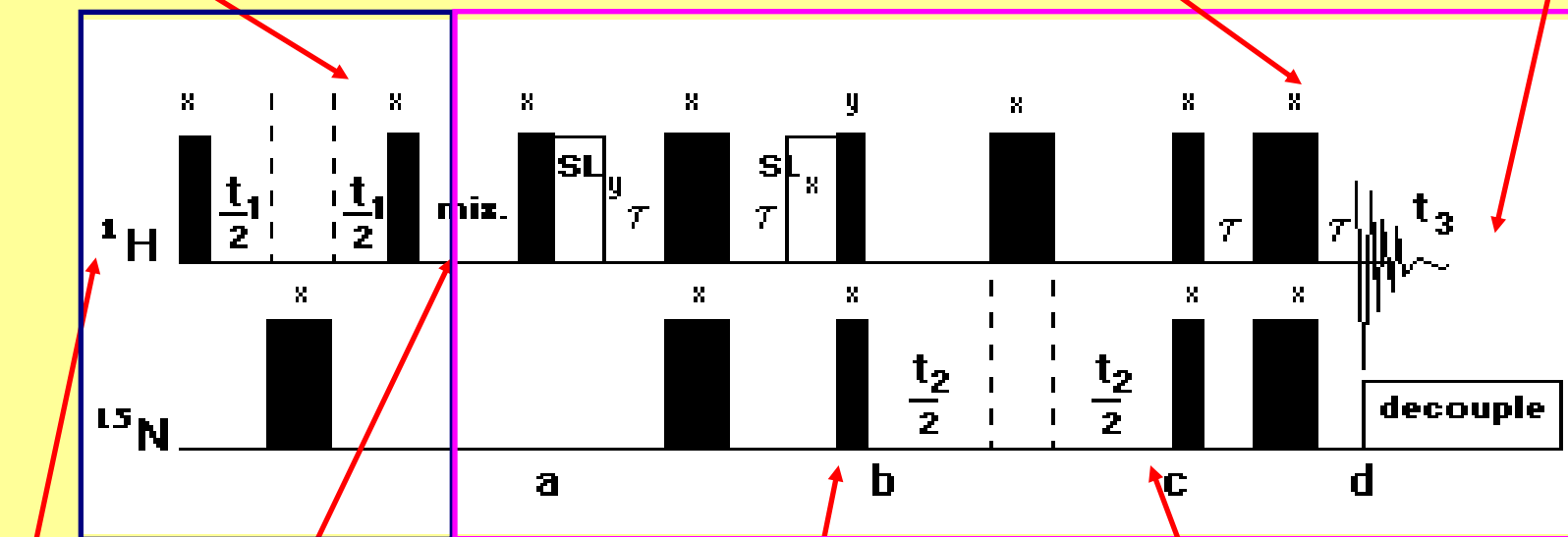


$$-I_x a_{IK} \cos(\Omega_K t_1) \cos(\Omega_N t_2)$$

$$-I_x a_{IK} \cos(\Omega_K t_1) \sin(\Omega_I t_3) \cos(\Omega_N t_2)$$

$$-2I_z \cos(\Omega_I t_1)$$

3D-NOESY-HSQC



$$-2I_z a_{IK} \cos(\Omega_K t_1)$$

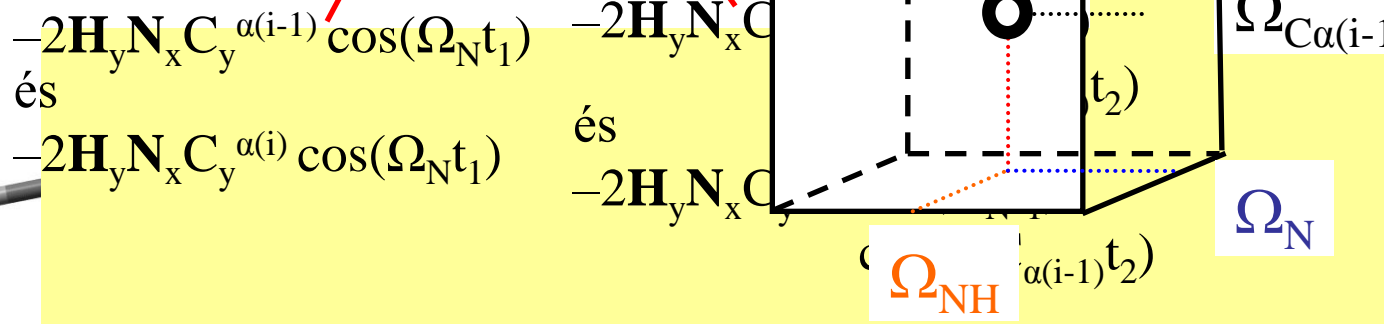
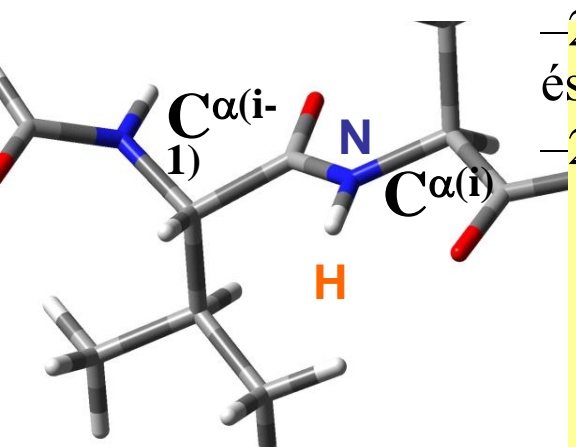
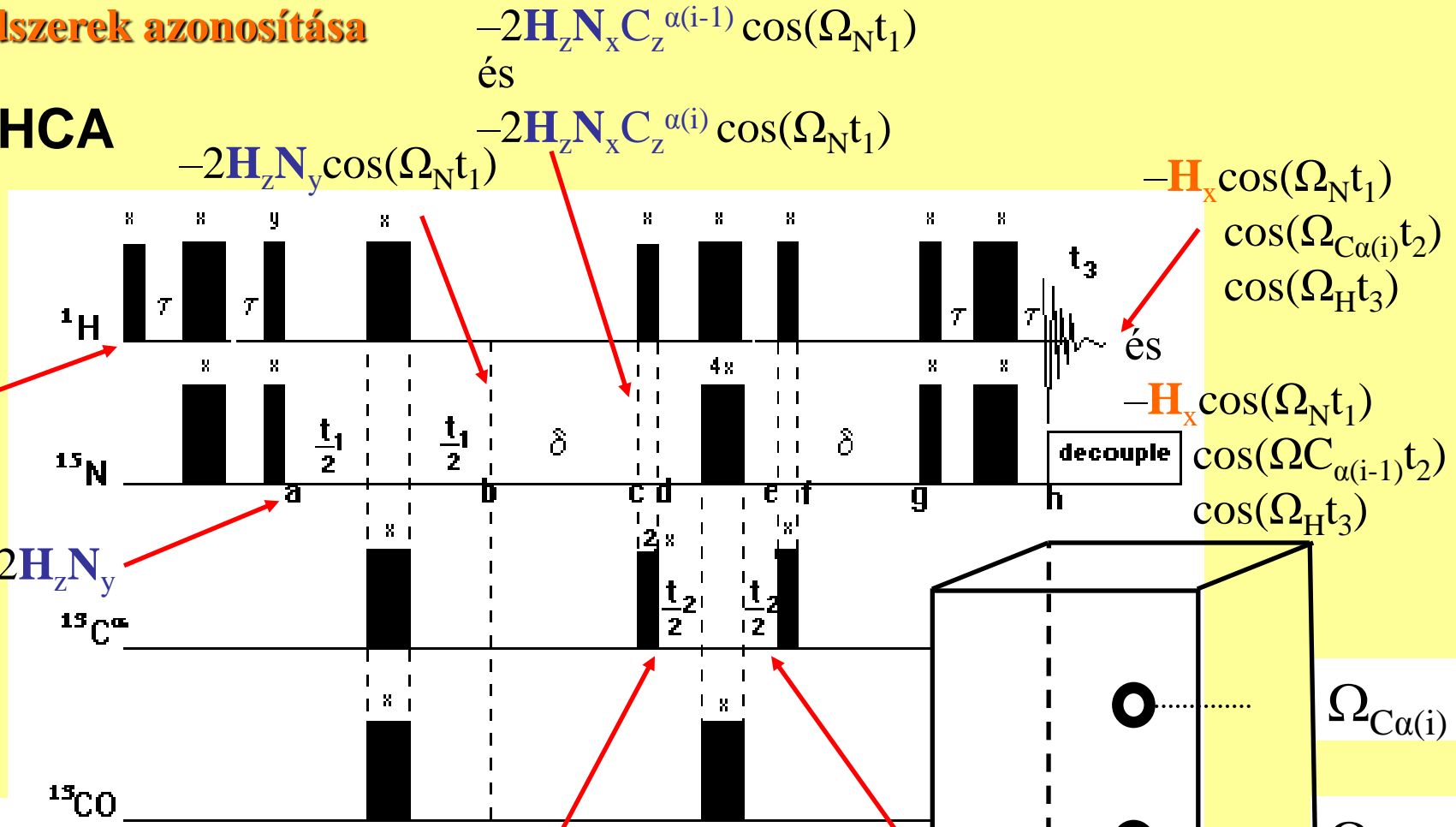
$$-2I_z N_y a_{IK} \cos(\Omega_K t_1) \cos(\Omega_N t_2)$$

$$-2I_z N_y a_{IK} \cos(\Omega_K t_1)$$

A J_{IK} okozta modulációtól eltekintünk

spinrendszerek azonosítása

3D-NHCA



A skaláris csatolás okozta modulációtól eltekintünk