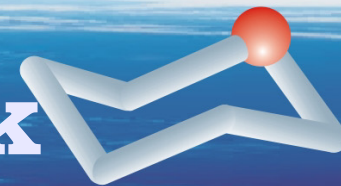


Elválasztástechnikai és bioinformatikai kutatások

Dr. Harangi János
DE, TTK, Biokémiai Tanszék

Fő kutatási területek

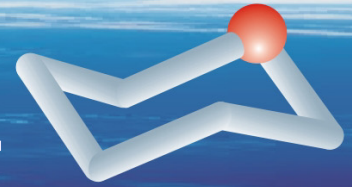


- Enzimek vizsgálata
 - mannozidáz
 - amiláz
 - OGT
- **Analitikai kutatások**
 - **Élelmiszer analitika**
 - **Magas hőmérsékletű HPLC**
- Biológiailag aktív molekulák szintézise
 - oligoszacharidok,
 - glikopeptidek,
 - neoglikoproteinek
- **Bioinformatikai kutatások**





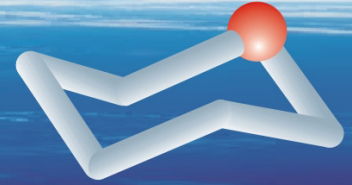
Élelmiszer analitika



- Minőség ellenőrzés
- Eredetvizsgálat
(Eredetigazolás)
- Élelmiszer biztonság

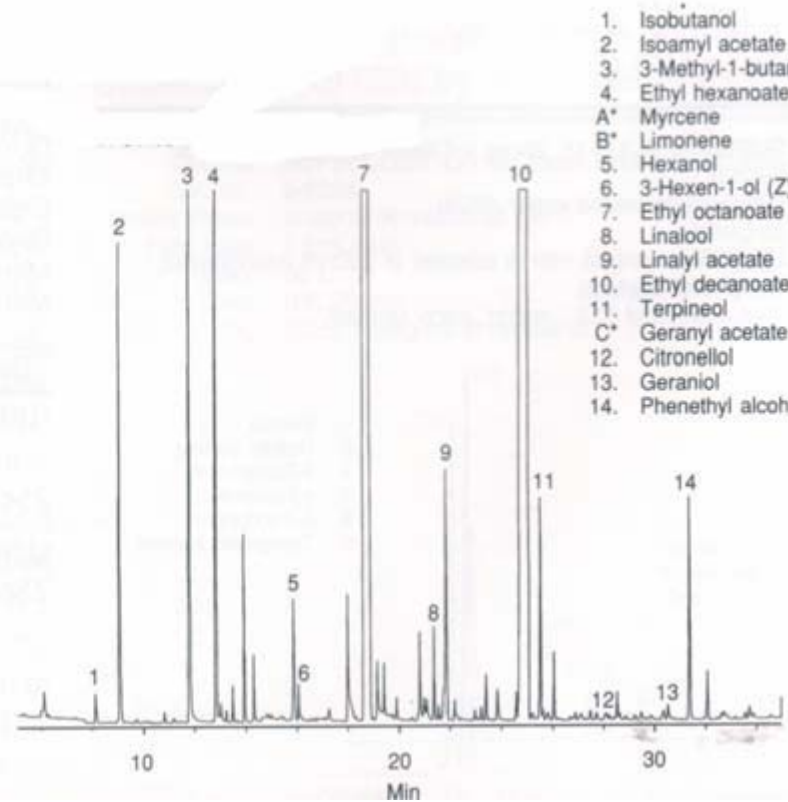
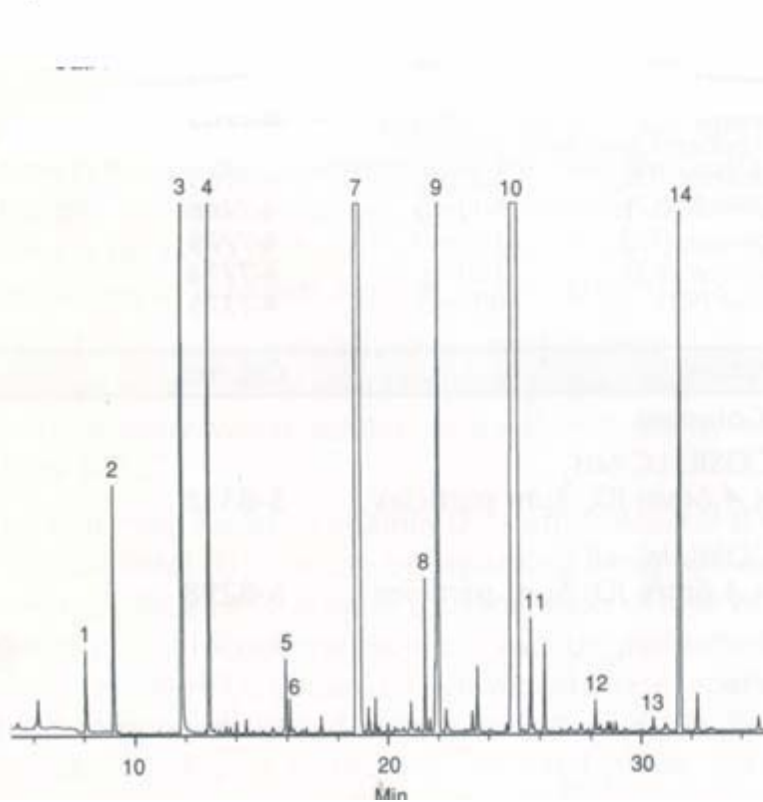
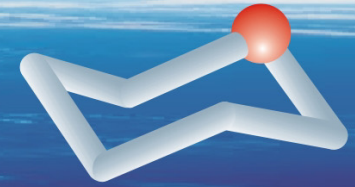


Eredetvizsgálat



- Borok
 - Illat anyagok: GC
 - Íz anyagok: GC, HPLC
 - Tanninok
 - Szín
- Olajok: (állati, növényi eredetű)
 - zsírsav összetétel: GC
 - koleszterin tartalom: HPLC
- Méz:
 - cukor összetétel: HPLC
 - Aroma anyagok: GC

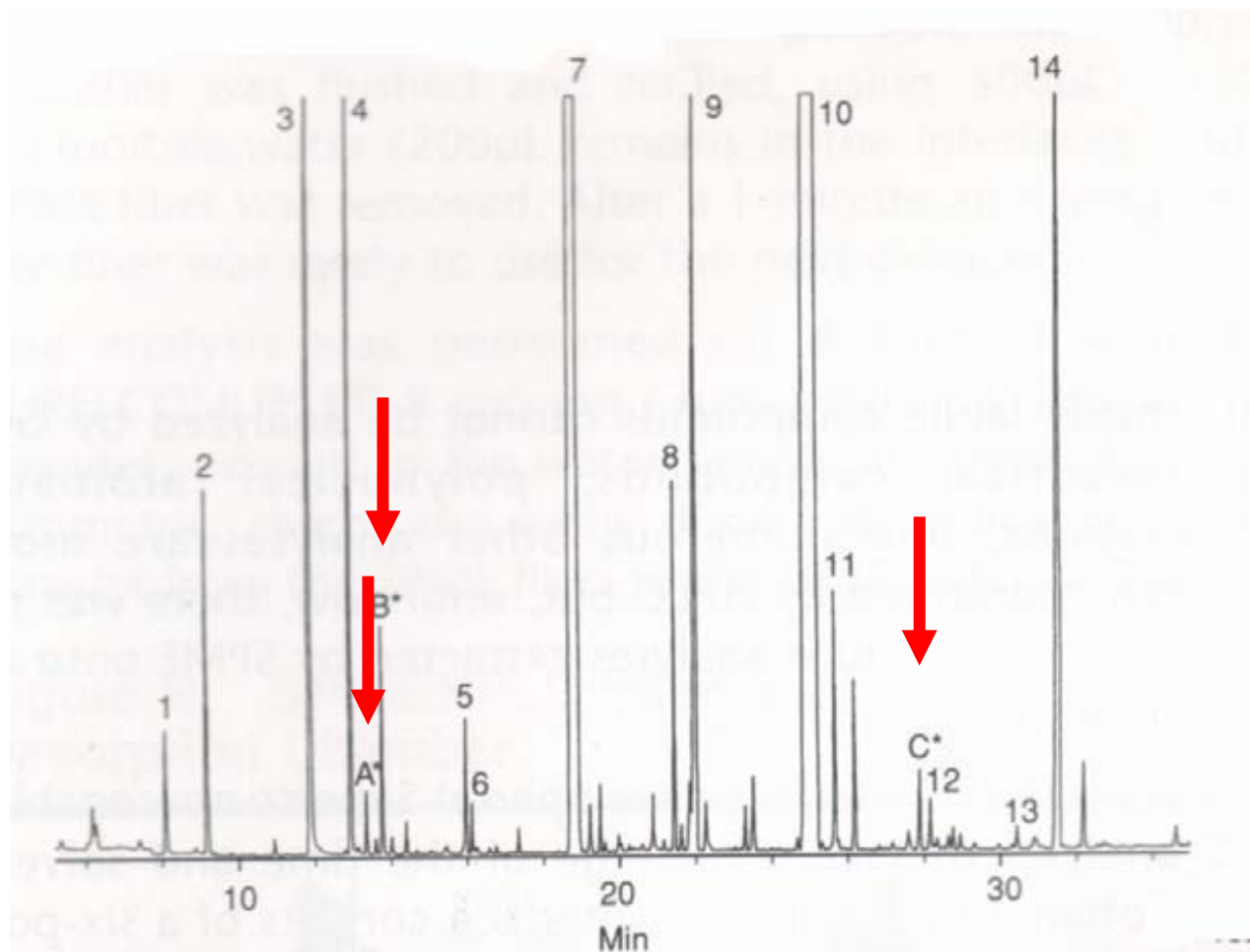
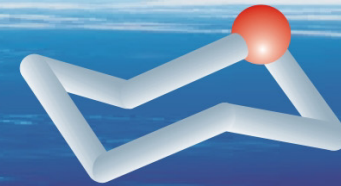
Borok elemzése (muskotály)



1.	Isobutanol	1044
2.	Isoamyl acetate	1079
3.	3-Methyl-1-butanol	1158
4.	Ethyl hexanoate	1190
A*	Myrcene	1201
B*	Limonene	1215
5.	Hexanol	1299
6.	3-Hexen-1-ol (Z)	1302
7.	Ethyl octanoate	1390
8.	Linalool	1474
9.	Linalyl acetate	1486
10.	Ethyl decanoate	1588
11.	Terpineol	1619
C*	Geranyl acetate	1684
12.	Citronellol	1695
13.	Geraniol	1763
14.	Phenethyl alcohol	1802

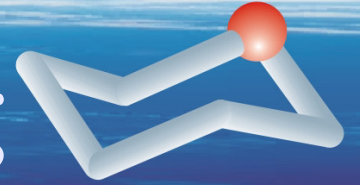


Boridegen anyagok



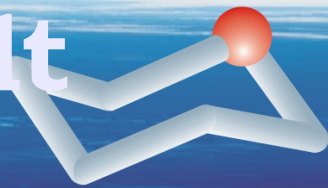


Élelmiszerbiztonság



- Növényvédőszer maradék: GC,
- Csomagoló anyagokból kioldódó szennyezők: GC, HPLC, MS
- Toxinok: HPLC, MS

Kutatásokhoz használt műszerek



Spektrofotométer:

- színanyagok mérése
- koncentráció mérés
- enzimek kinetikai vizsgálata



Kutatásokhoz használt műszerek

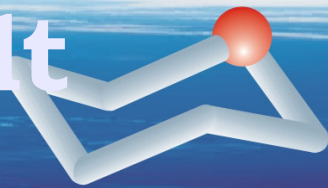


HPLC:

- bontási kép vizsgálatok
- koncentráció meghatározás
- preparatív elválasztások



Kutatásokhoz használt műszerek



MALDI-TOF MS:

- molekulatömeg meghatározás
- szerkezetvizsgálat
- reakció követés





MALDI-TOF MS vizsgálat

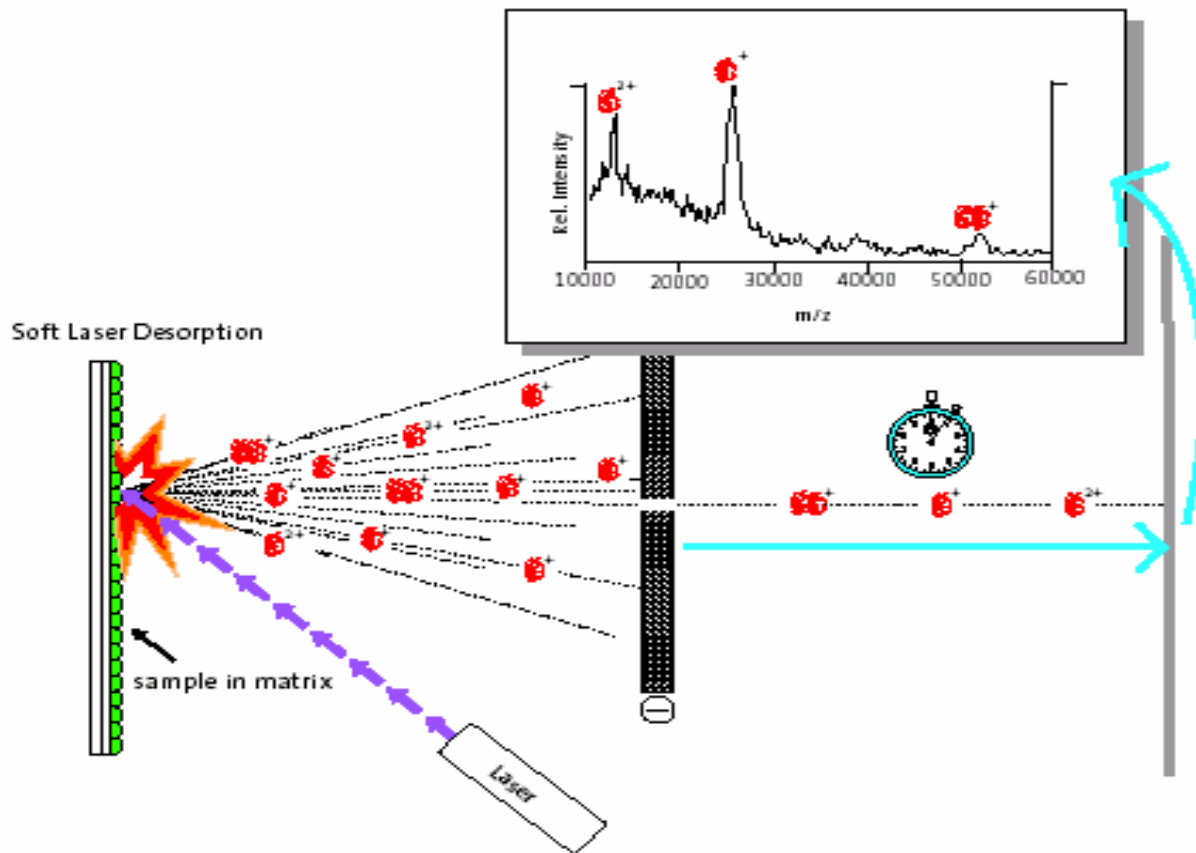
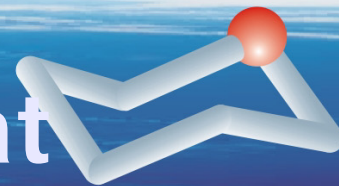
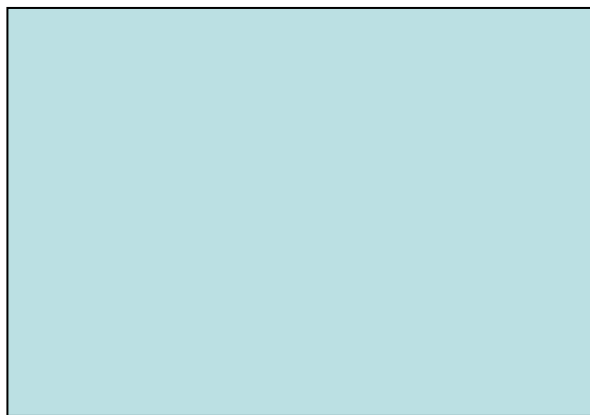
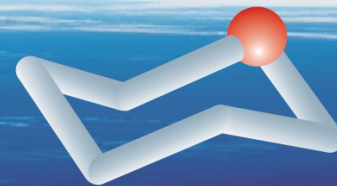


Figure 2. The soft laser desorption process.



TOF MS



Kutatásokhoz használt műszerek

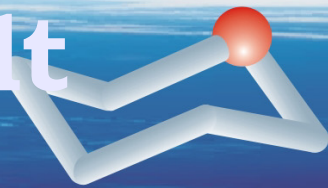


GC:

- Illóanyagok vizsgálata
- Növényvédőszer maradék meghatározás
- Zsírsav összetétel vizsgálat



Kutatásokhoz használt műszerek

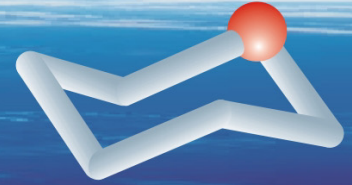


HPLC-ESI-MS:





Glikoproteinek



Glikoproteinek

N-glikoproteinek

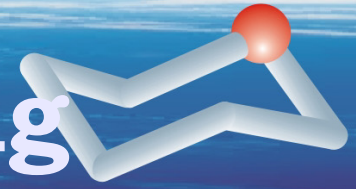
O-glikoproteinek

előfordulás:

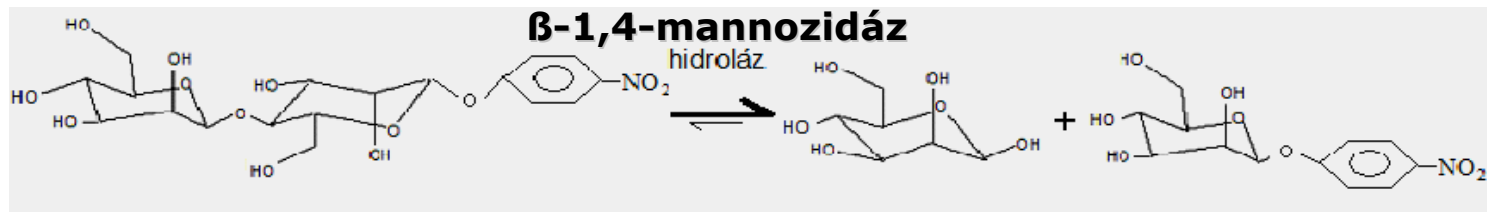
- citoszol
- sejtmembrán
- extracelluláris folyadék



Molecular engineering



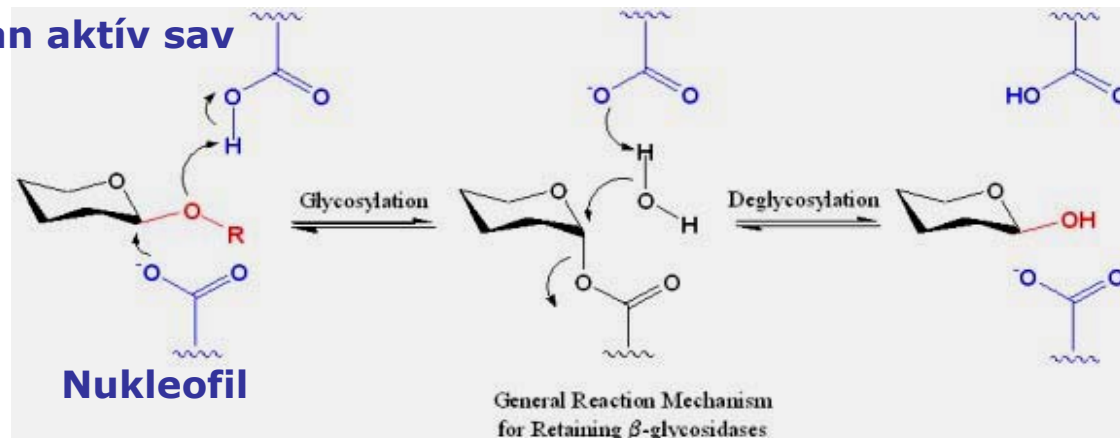
Reverzibilis hidrolízis



Transzferáz aktivitás 1%

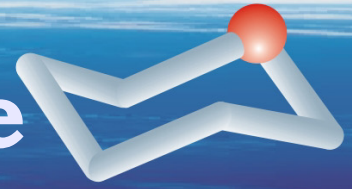
**Cél a transzferáz aktivitás növelése a hidroláz aktivitás megszüntetésével:
a katalitikusan aktív aminosavak célzott cseréje (helyspecifikus mutagénezissel)**

Katalitikusan aktív sav





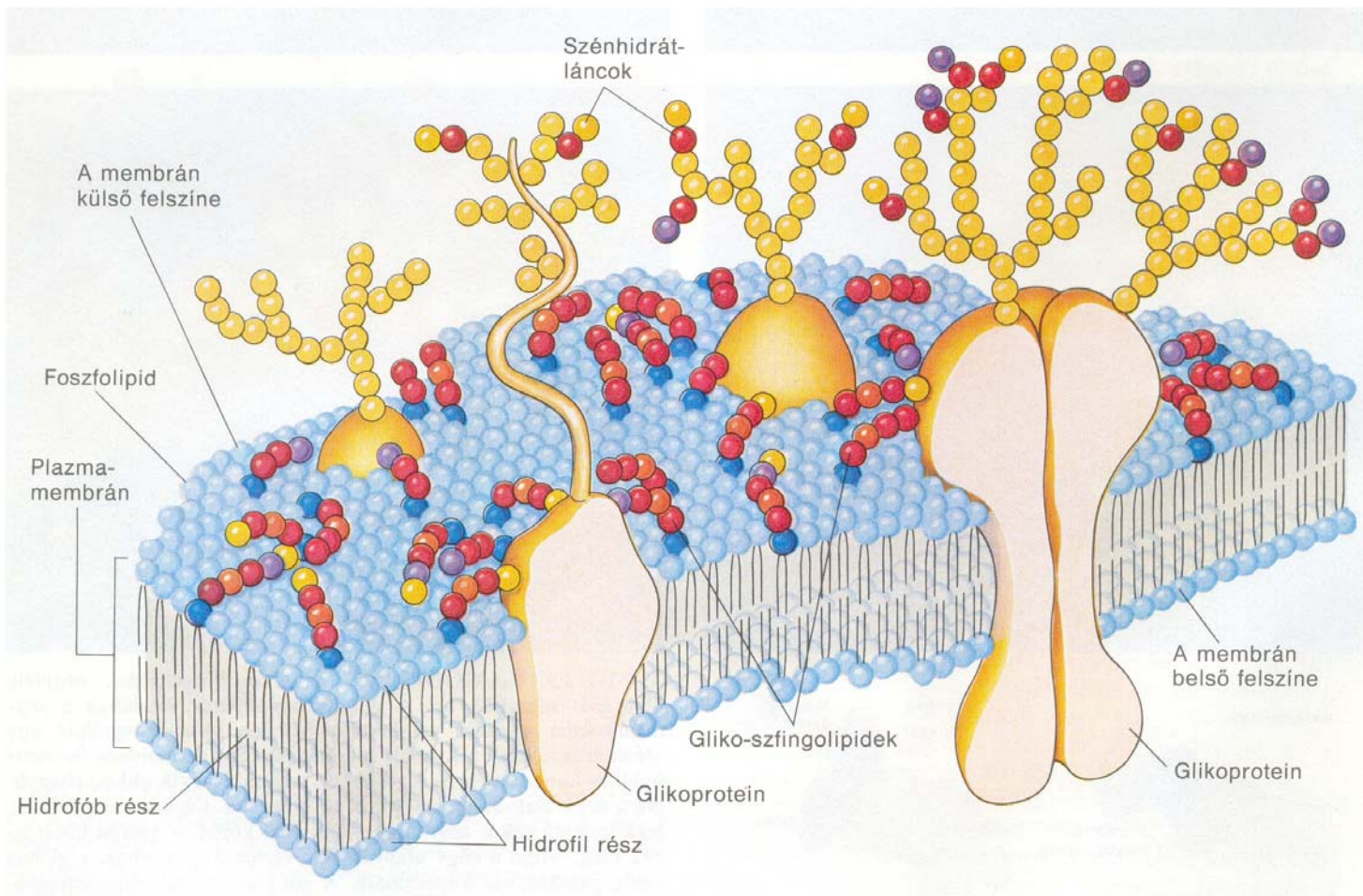
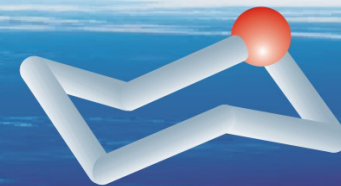
Glikoproteinek szerepe



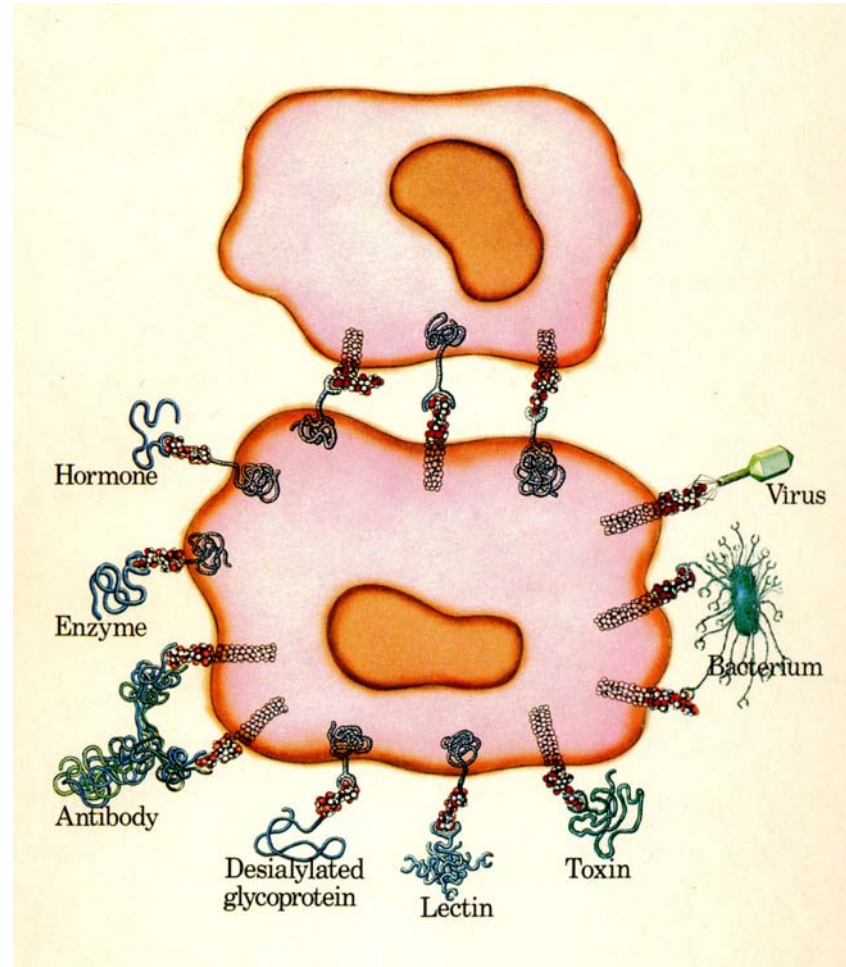
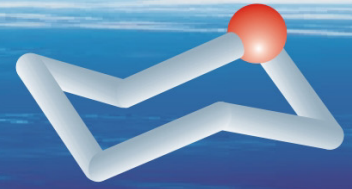
- megtermékenyülés
- immunvédelem
- vírusos, bakteriális fertőzések
- sejtnövekedés
- sejt-sejt adhézió
- vérrögök feloldódása
- gyulladásos folyamatok
- tumor antigének



Plazmamembrán

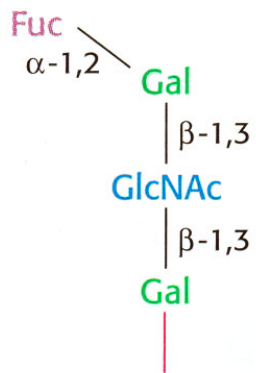
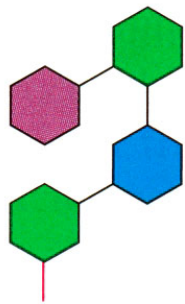
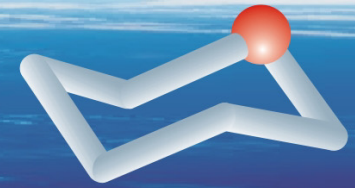


Sejtfelszíni szénhidrátok szerepe

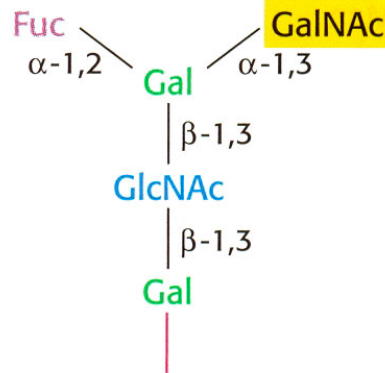
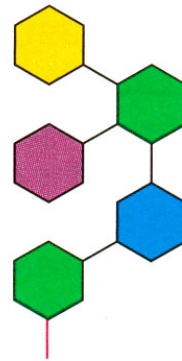




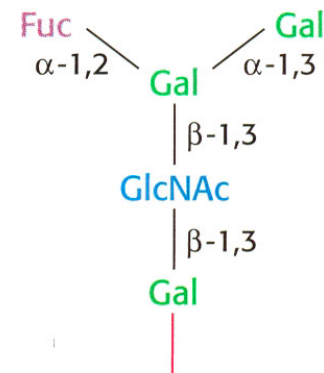
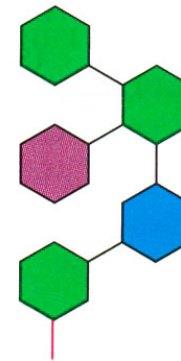
Vércsoport antigének



O antigen

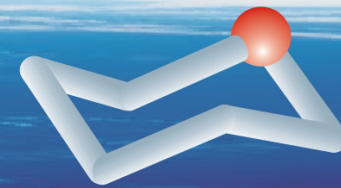


A antigen



B antigen

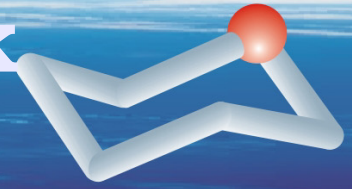
A glikoproteo glikánok funkciói I.



➤ Fiziko-kémiai funkciók

- Oldhatóság, elektromos töltés, tömeg, viszkozitás módosítása oldatban
- Fehérje folding kontrollja
- Fehérje konformáció stabilizálása
- Hőstabilitás, védelem a proteolitikus enzimekkel szemben

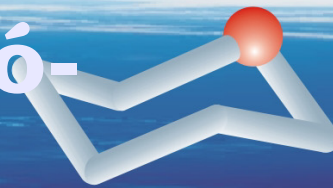
A glikoproteo glikánok funkciói II.



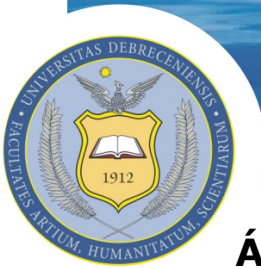
➤ Biológiai funkciók

- A glikoproteinek intracelluláris mozgásának és helyzetének szabályozása
- A keringésben levő glikoproteinek élettartamának szabályozása
- Immunológiai tulajdonságok módosítása
- Enzimek, hormonok aktivitásának módosítása
- Sejtfelszíni receptorok
- Sejt-sejt kölcsönhatások

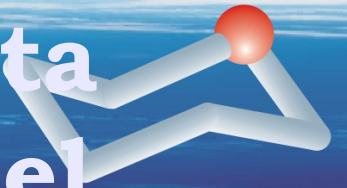
Biopolimerek információ- tároló képessége



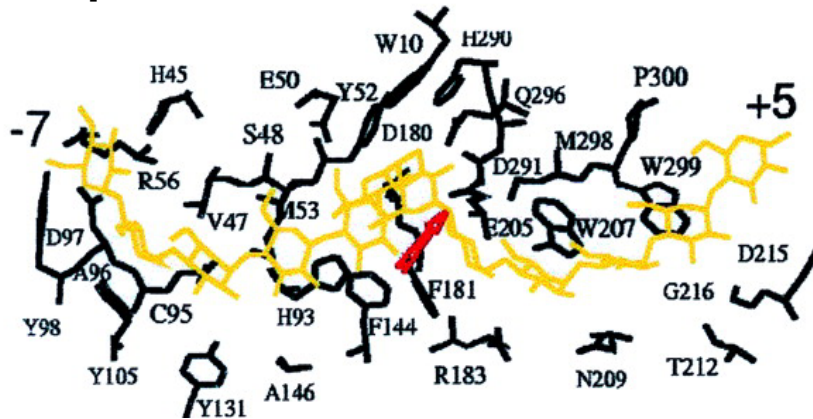
		Az izomerek száma	
		Peptidek, Nukleinsavak	Szénhidrátok
Monomer	Z	1	1
Dimer	ZZ	1	11
Trimer	ZZZ	1	120
Tetramer	ZZZZ	1	1 424
Pentamer	ZZZZZ	1	17 872
Monomer	Z	1	1
Dimer	YZ	2	20
Trimer	XYZ	6	720
Tetramer	WXYZ	24	34 560
Pentamer	VWXYZ	120	2 144 640



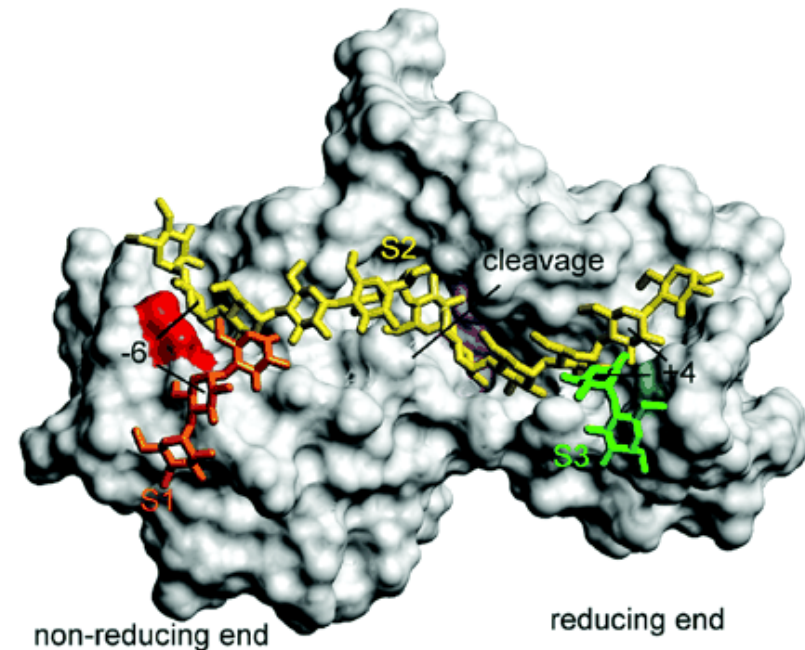
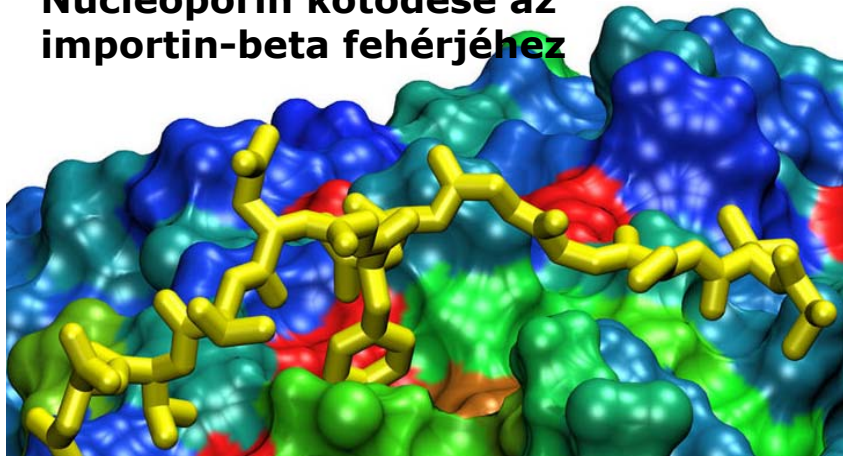
Ámiláz enzimek vizsgálata molekuláris modellezéssel



Árpa ámiláz enzim szubsztrátkötő helye

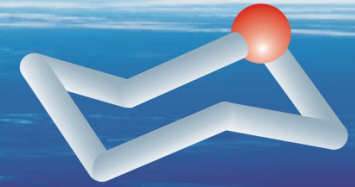


Nucleoporin kötődése az importin-beta fehérjéhez

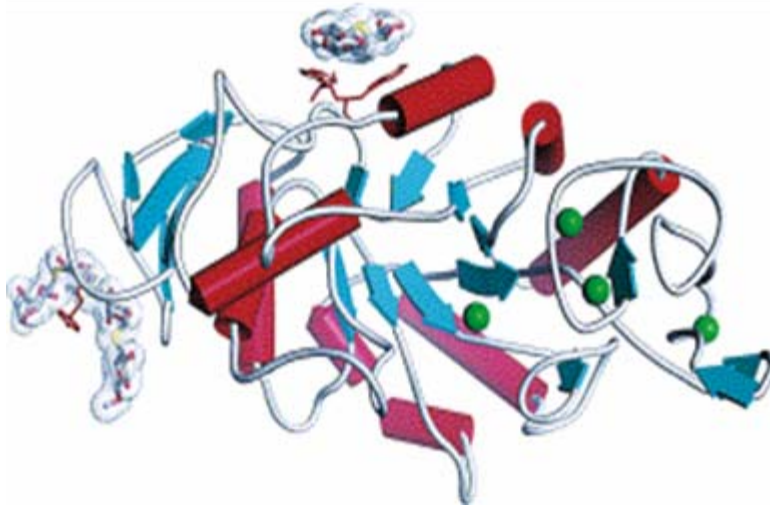
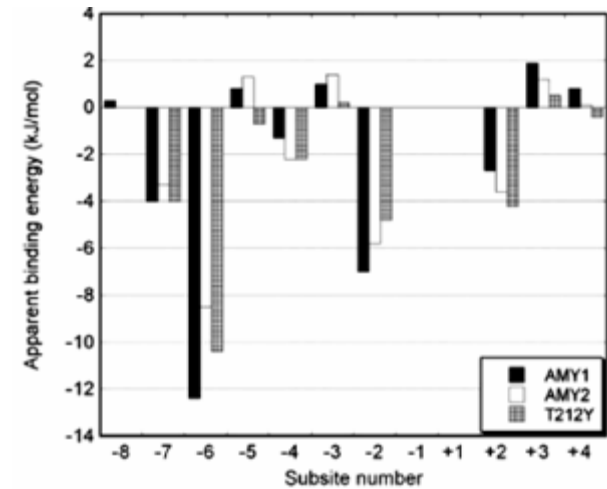


Árpa ámiláz enzim szubsztráttal

Amiláz enzim alhelyei



- 1) amiláz enzimek vizsgálata,
működési sajátosságok meghatározása,
az enzim szubsztrát-kötésének vizsgálata,
kölsönhatási energiák meghatározása
- 2) molekulák keresése adatbázisból
(információk szekvenciáról, szerkezetről, működésről)



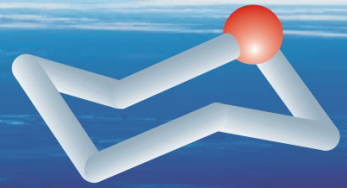
RCSB **PDB**
PROTEIN DATA BANK



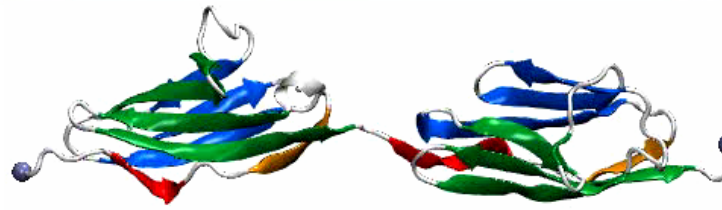
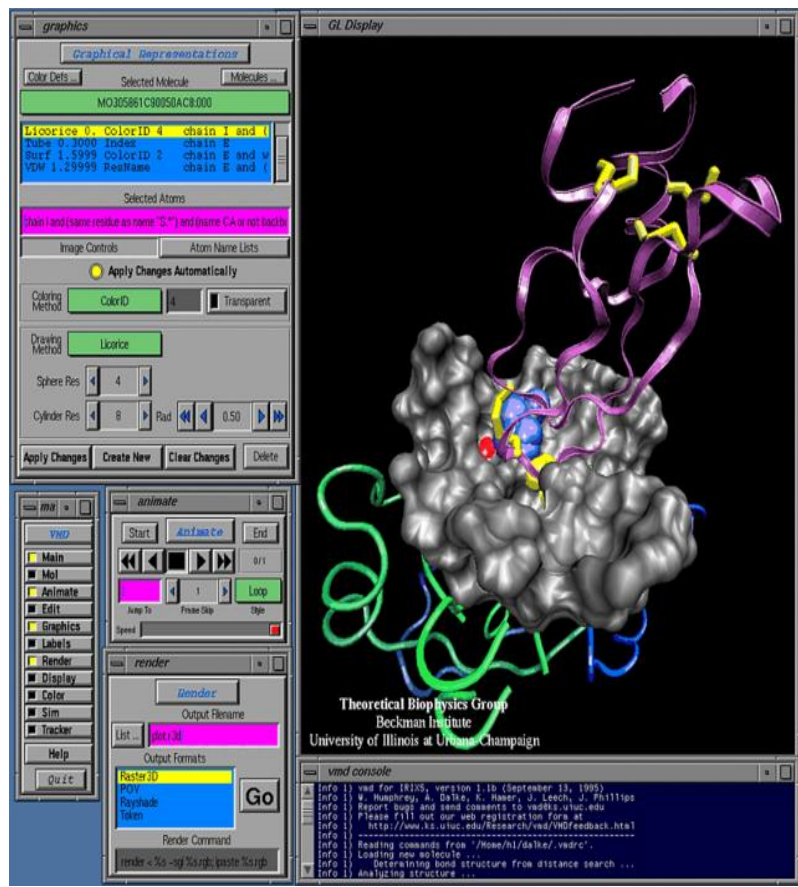
WORLDWIDE
PDB
PROTEIN DATA BANK



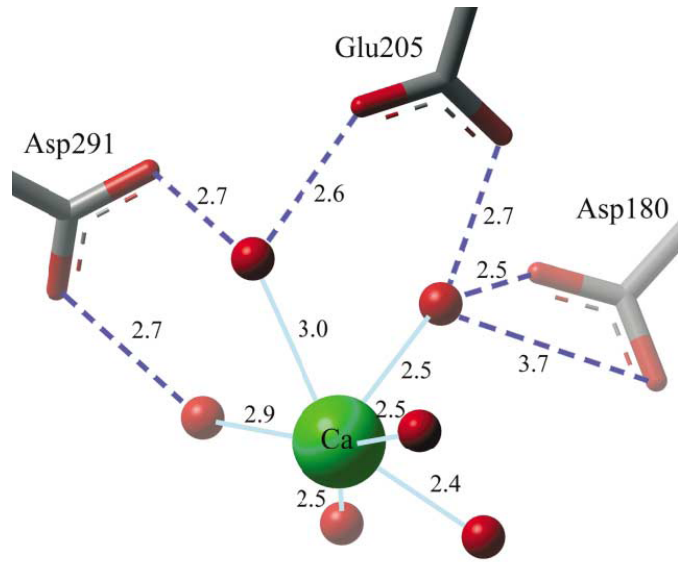
Molekuláris modellezés



3) molekulamodellés számítógépes programok segítségével



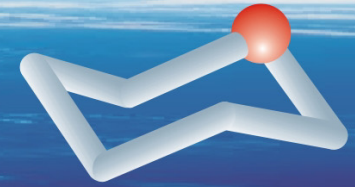
Molekuladinamika: fehérjék szerkezetének időbeli változását is lehet modellezni
Az ábrán az izomműködés során a titin Z122 fehérje kitekeredése látható



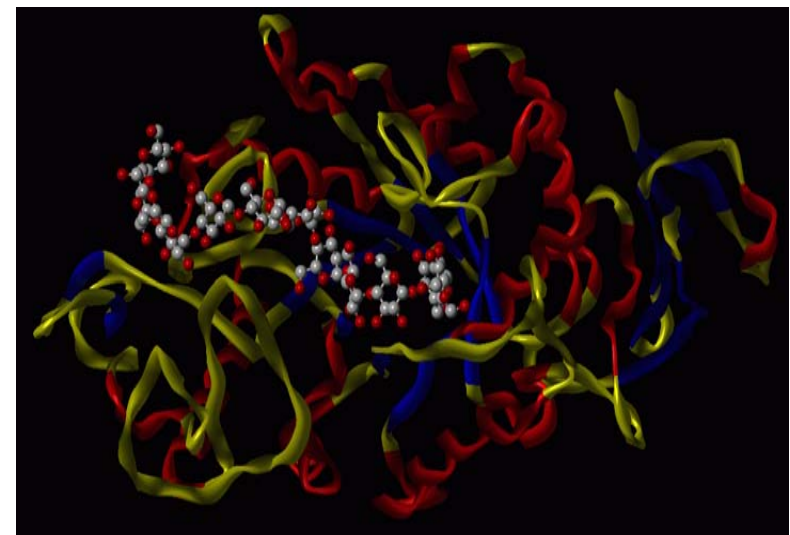
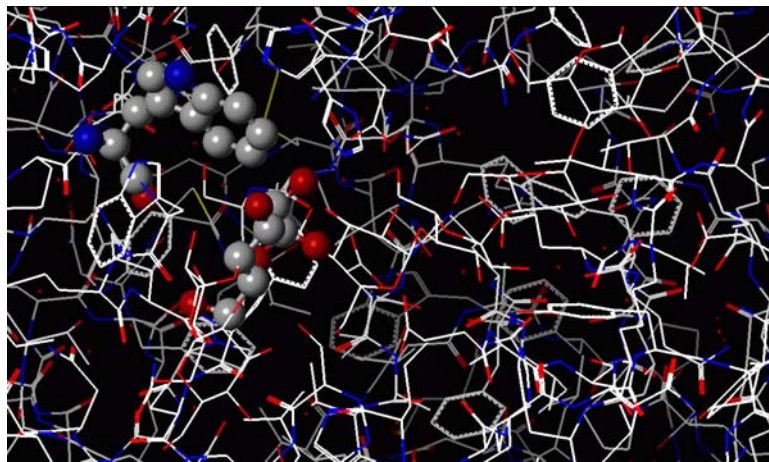
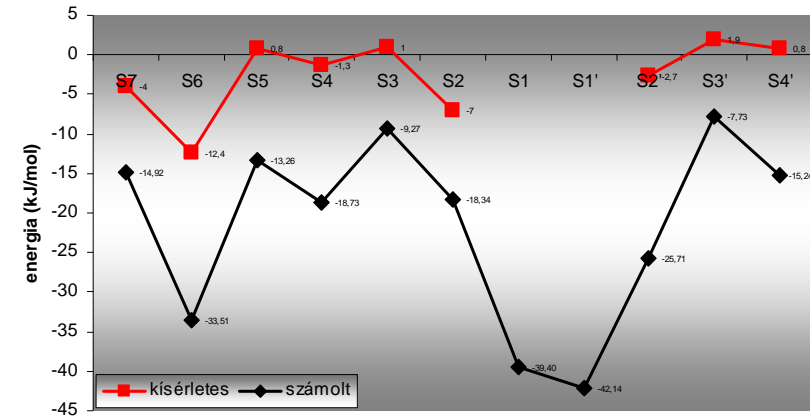
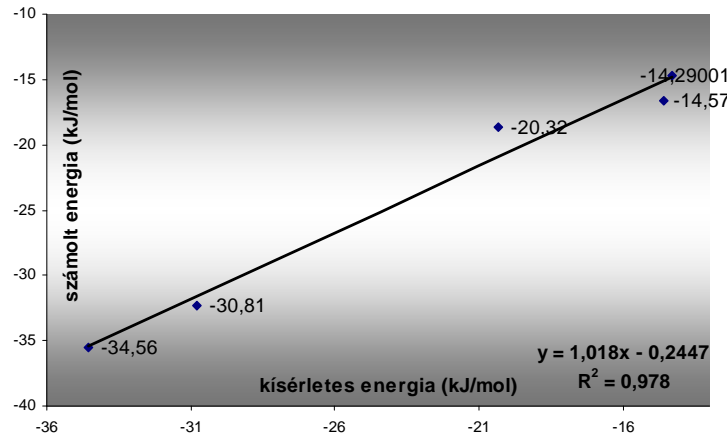
Kölcsönhatások az árpa amidázban



Molekuláris modellezés

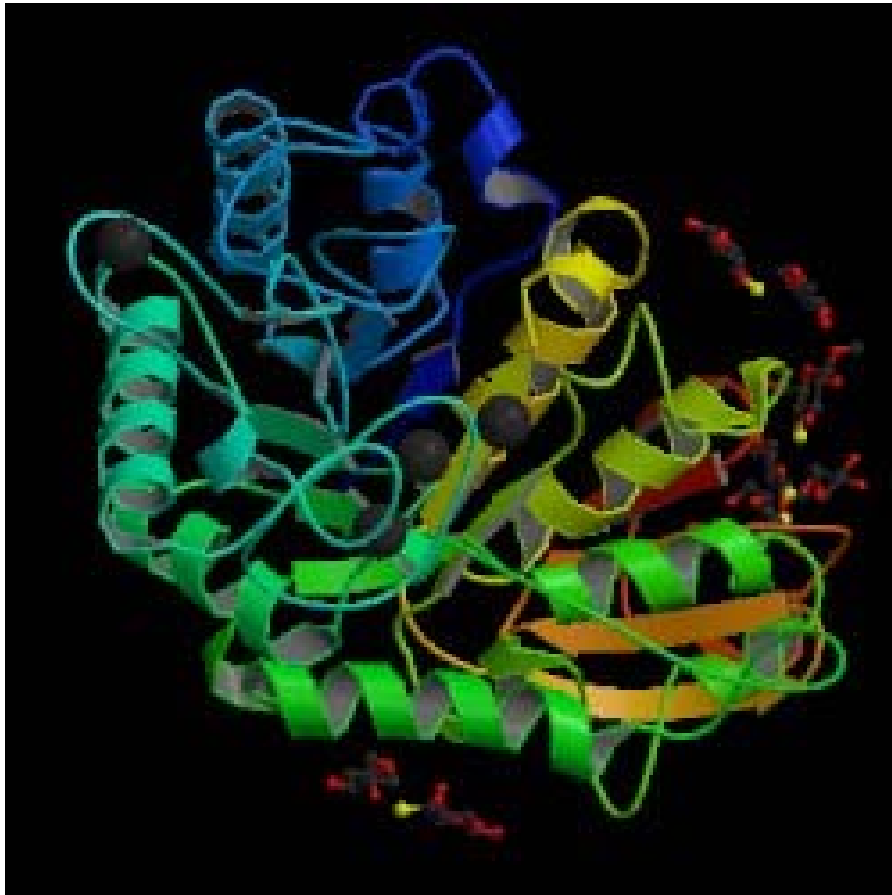
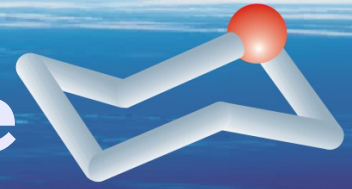


4) a kísérletes eredmények igazolása molekuláris modellezzéssel



Árpa amiláz enzim mutációja

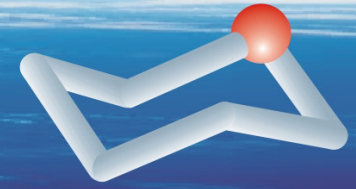
Amilázok szerkezete



- α -hélixek és β -redők
- hurkok kötik össze \rightarrow alhelyek
- változatos alhely szerkezet
- eredettől függ



A modellezés folyamata



- A molekulamodellezés célja: térbeli szerkezet ábrázolása
- Kísérleti eredmények reprodukálása
- Molekulatervezés
 - Pénz és idő megtakarítás
 - Az enzimműködés megjósolható
 - Célmolekulák tervezése
 - Új termékek

