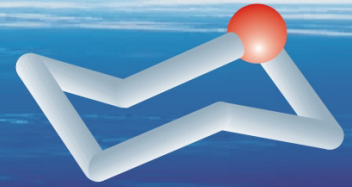


# **Szénhidrát-kémiai kutatások bioinformatikai esetek**

Dr. Harangi János  
DE, TTK, Biokémiai Tanszék

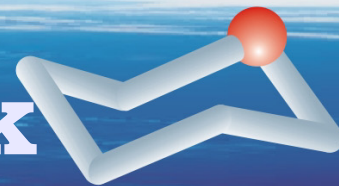


# Intranet



<http://dspace.lib.unideb.hu:8080/dspace/handle/2437/2815>

# Fő kutatási területek

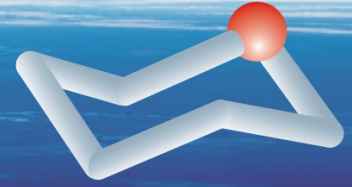


- Enzimek vizsgálata
  - mannozidáz
  - amiláz
  - OGT
- Analitikai kutatások
  - Élelmiszer analitika
  - Magas hőmérsékletű HPLC
- **Biológiailag aktív molekulák szintézise**
  - **oligoszacharidok,**
  - **glikopeptidek,**
  - **neoglikoproteinek**
- **Bioinformatikai kutatások**





# Glikoproteinek



## Glikoproteinek

*N*-glikoproteinek

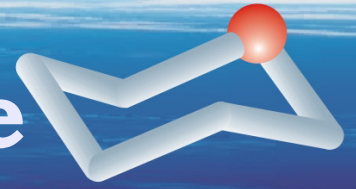
*O*-glikoproteinek

előfordulás:

- citoszol
- sejtmembrán
- extracelluláris folyadék



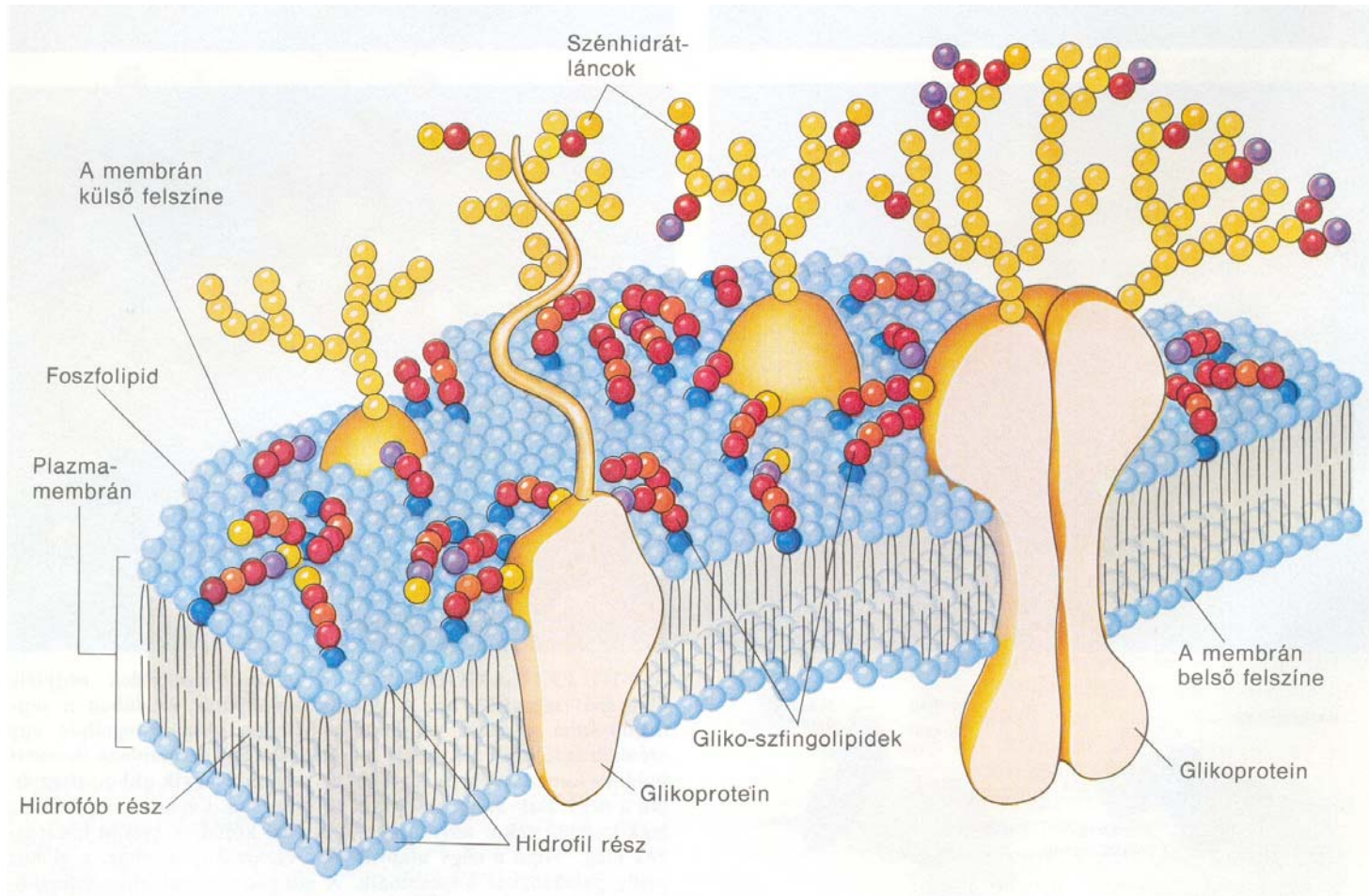
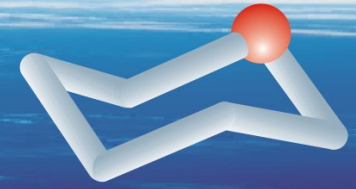
# Glikoproteinek szerepe



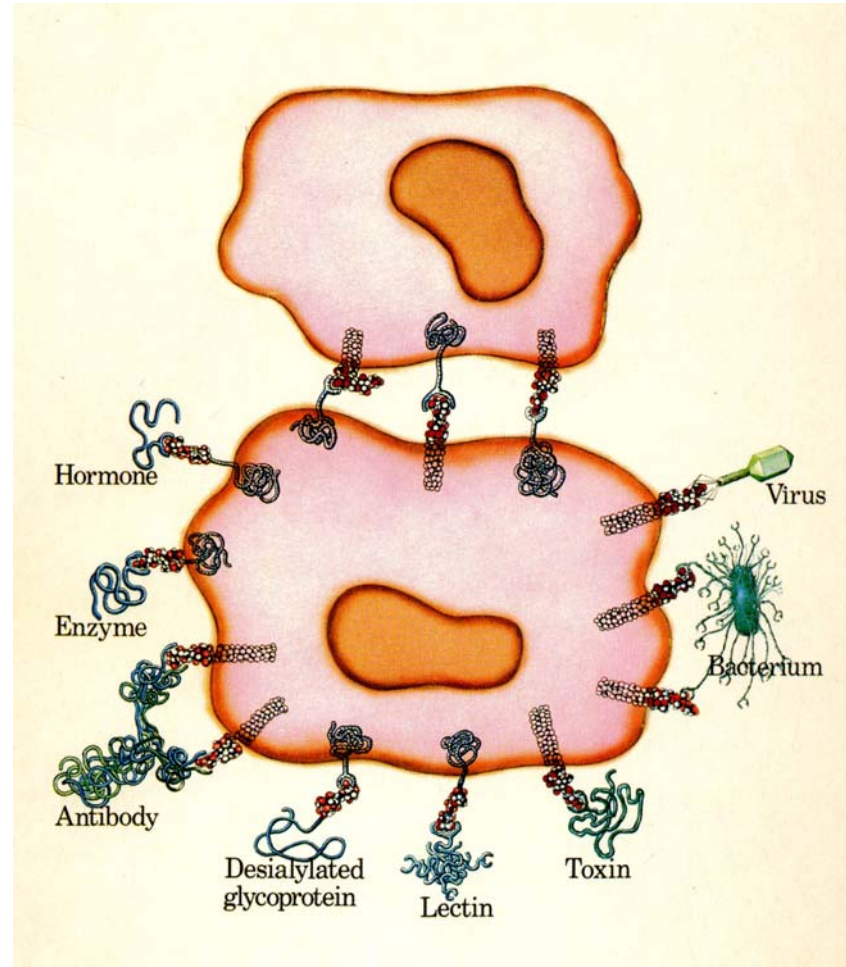
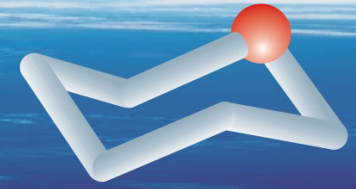
- megtermékenyülés
- immunvédelem
- vírusos, bakteriális fertőzések
- sejtnövekedés
- sejt-sejt adhézió
- vérrögök feloldódása
- gyulladásos folyamatok
- tumor antigének



# Plazmamembrán

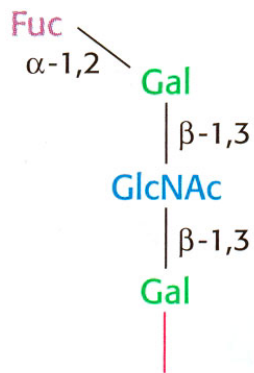
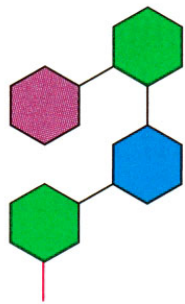
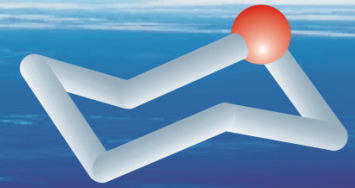


# Sejtfelszíni szénhidrátok szerepe

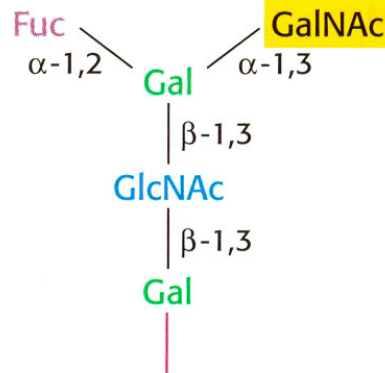
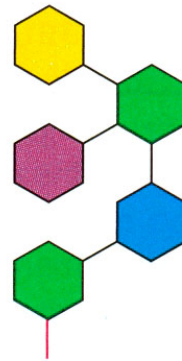




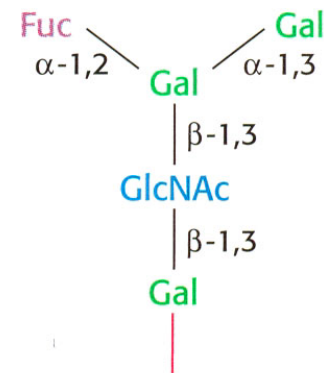
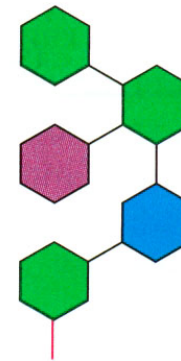
# Vércsoport antigének



**O antigen**

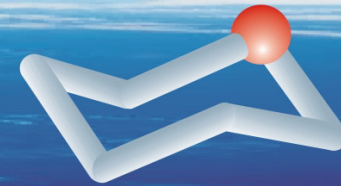


**A antigen**



**B antigen**

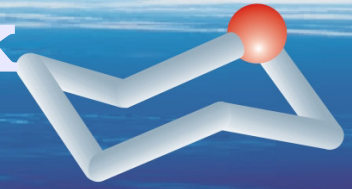
# A glikoproteo glikánok funkciói I.



## ➤ Fiziko-kémiai funkciók

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

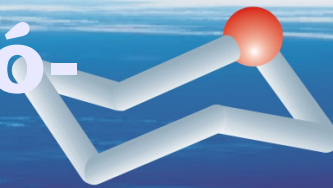
# A glikoproteo glikánok funkciói II.



## ➤ Biológiai funkciók

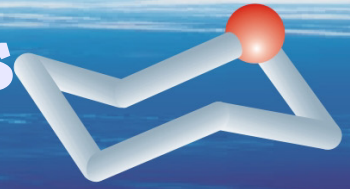
- A glikoproteinek intracelluláris mozgásának és helyzetének szabályozása
- A keringésben levő glikoproteinek élettartamának szabályozása
- Immunológiai tulajdonságok módosítása
- Enzimek, hormonok aktivitásának módosítása
- Sejtfelszíni receptorok
- Sejt-sejt kölcsönhatások

# Biopolimerek információ- tároló képessége



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

# Mesterséges bakteriális antigének előállítása



- Sejtfal **oligoszaharidok** kémiai szintézisével lehetséges *mesterséges bakteriális antigének* előállítása
- De: az oligoszaharidok kis molekulatömegűek (haptének)
- Önmagukban nem képesek immunológiai reakciót kiváltani



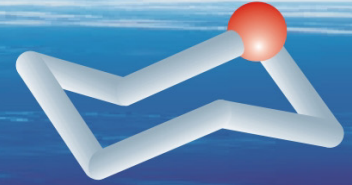
# Oligoszaharidok molekulatömegének növelése



- Leggyakrabban használt módszer:  
*neoglikoproteinek* szintézise
- Allil-glikozidok poliakrilamiddal  
történő ko-polimerizációja
- Oligoszaharidok 1,2-O-cianoetilidén  
származékainak polimerizációja

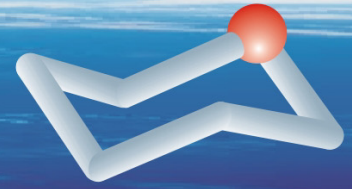


# Neoglikoproteinek előállítása



- Az oligoszaharid és a makromolekuláris hordozó közötti kovalens kötés kialakításához hídmolekulára (*spacer*) van szükség
- **Spacer:**
- Két funkciós-csoporttal rendelkeznek
- Megfelelő hosszúságú
- Nem túlságosan hidrofób
- Nem tartalmaz olyan kötéseket, melyek fiziológias körülmények között elbomlanak

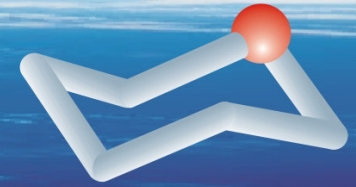
# Mesterséges immunizáció



- Immunreakció kiváltása fertőzés nélkül
- Új antibakteriális szerek
- Új antivirális szerek
- Receptorok szerepének feltárása és új hasznosítása

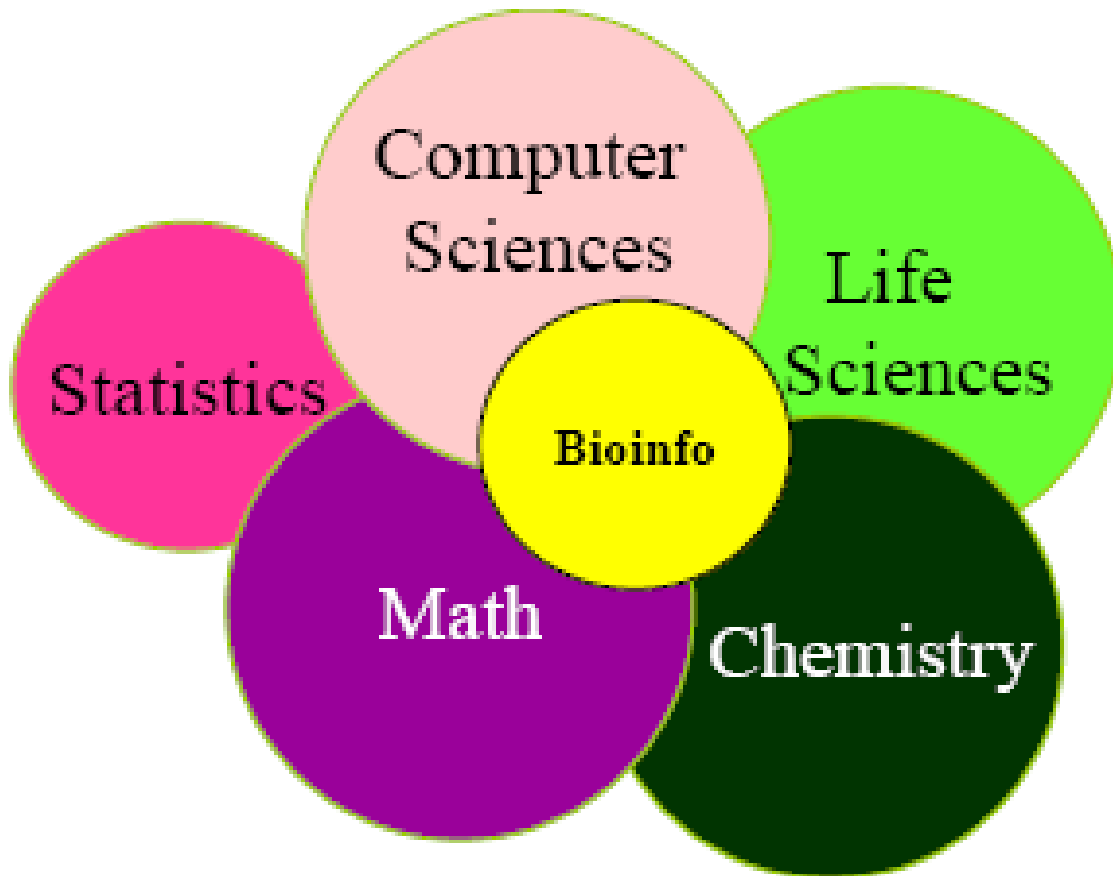
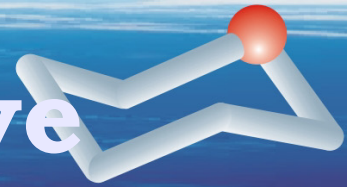


# Mi is az a bioinformatika?



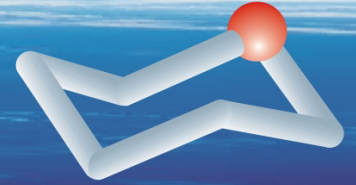
- Informatika a biológiai alkalmazásokban
- Az informatika szükségessége
  - Gének: a genetikai információ könyve
  - 4 betű
  - Olvashatjuk, de nem értjük teljesen
  - Junk DNS > 98% - a junk DNS szerepe
  - Adatbázisok (kereshetőség, publikusság)

# A bioinformatika helye





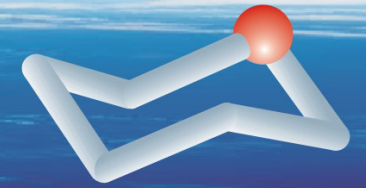
# HGP



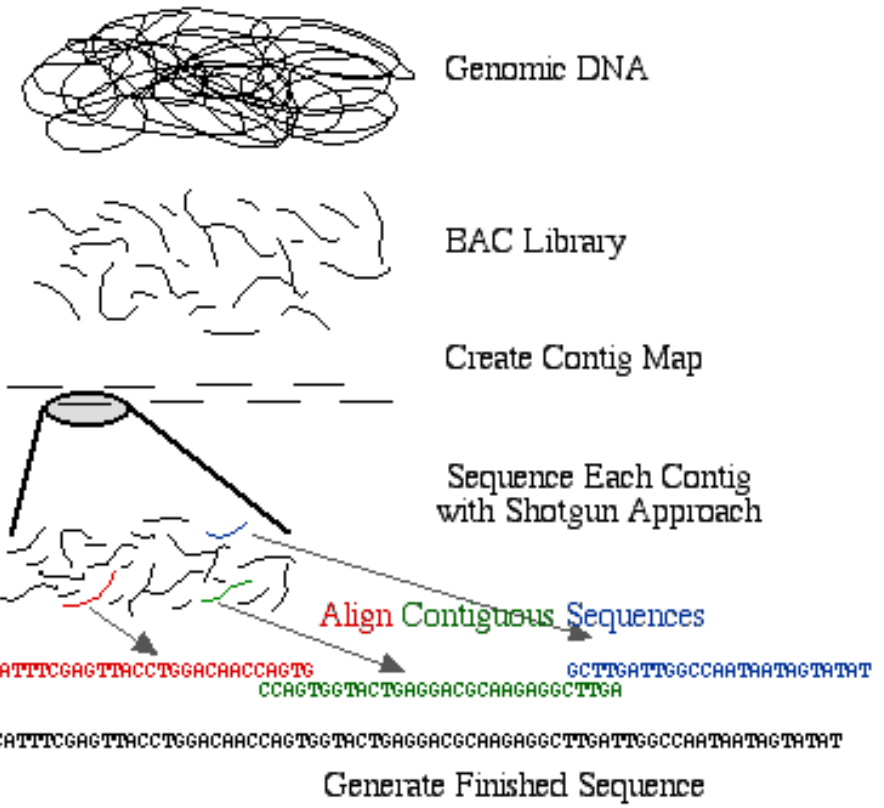
- 1990-2003
- Génszekvenálás
- Informatikai módszerek bevezetése



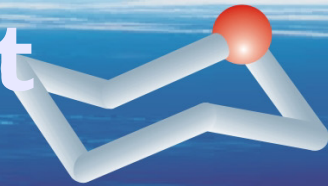
# HGP



## Hierarchical Shotgun Sequencing Method



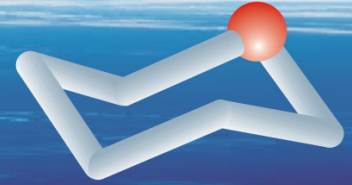
# A humán genom projekt tanulságai



- Az emberi genom kb. 30 000 gént tartalmaz, ezeknek kb fele ismeretlen
- Az emberek több, mint 99,9%-ban azonos géneket tartalmaznak
- Az emberi génkészlet több, mint fele nagy hasonlóságot mutat más fajok génjeivel



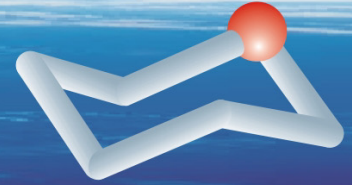
# Genomika



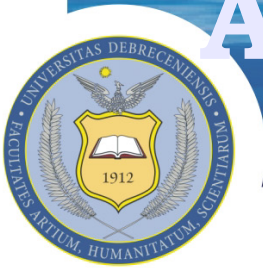
- Humán Genom Projekt
- Genetika és informatika
  - A szerkezet (szekvencia, 3D)
  - Funkció
- Szekvencia analízis
- Filogenetikai összefüggések
- Vizualizáció
- Kódolt fehérjék



# Proteomika



- Proteom – az élő sejt fehérjekészlete
- Elsődleges szerkezet
- Másodlagos szerkezet
- Folding
- Funkciók (enzimatis aktivitás)
  - Protein engineering
  - In-silico drug development

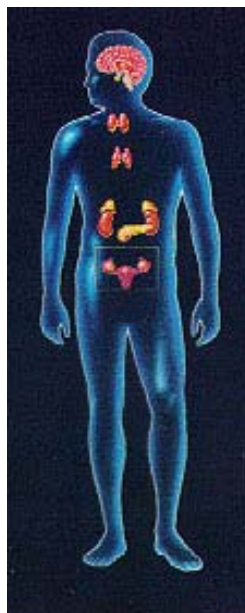


# A proteomika hosszútávú hatása



“... Today's arsenal of drugs, targets only 500 or so different proteins.”

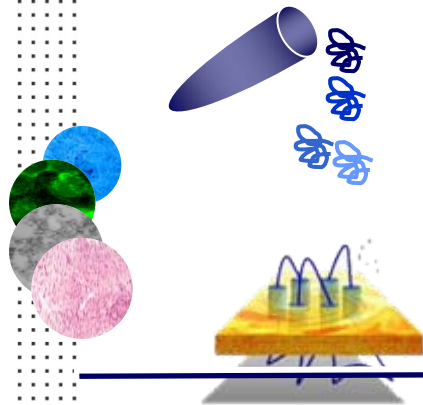
(Dr. M. Uhlen – **Science** magazine Vol 309, Issue 5739, 1310, 2005 )



# Proteomikai technológiák



## Tömegspektrometria

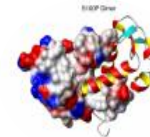


Biokémiiai  
technikák



Bioinformatika

Protein  
azonosítás

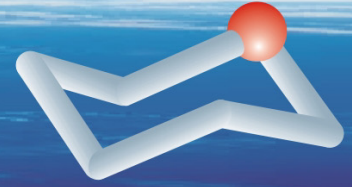


# The HUPO World...

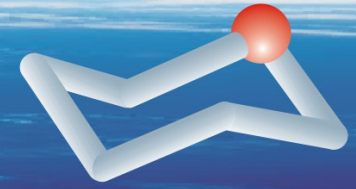




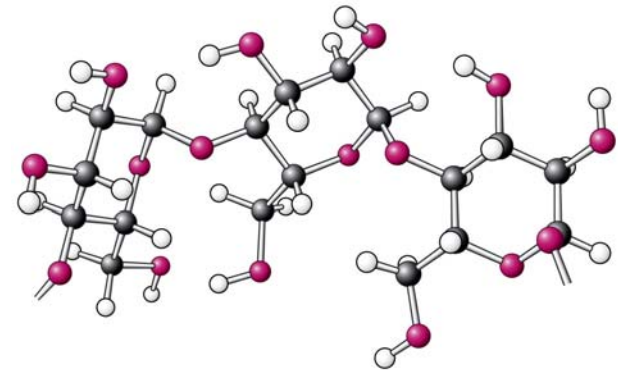
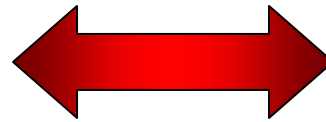
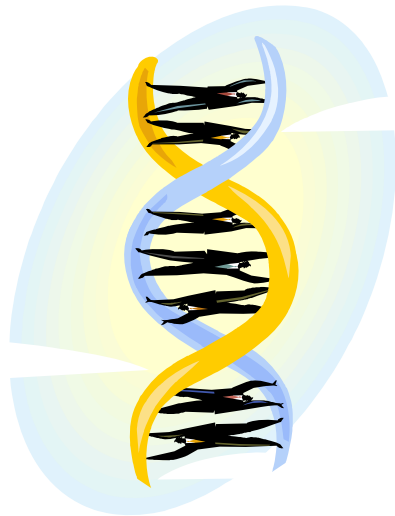
# Glikomika



- Glikom – az élő sejt szénhidrát készlete
- Szénhidrát adatbázis
- Az élő sejtben lévő proteinek több, mint fele szénhidrátot is tartalmaz
- Szénhidrátok szerkezet
  - Primer szerkezet (elágazások)
  - 3D szerkezet
- Funkciók



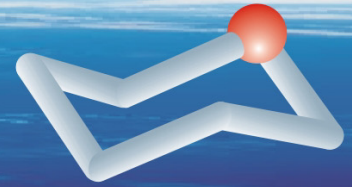
- Van-e kapcsolat a genom és a glikom között?



Chapter 11 Open part 2  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company



# Glikom és genom



Glycome

*Glycosidases, Glycosyl transferases, Carbohydrate modifying enzymes, Lectins, CBPs, ...*

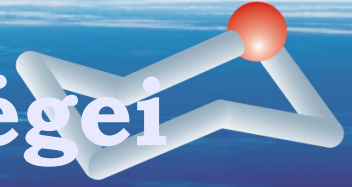
Proteome

Transcriptome

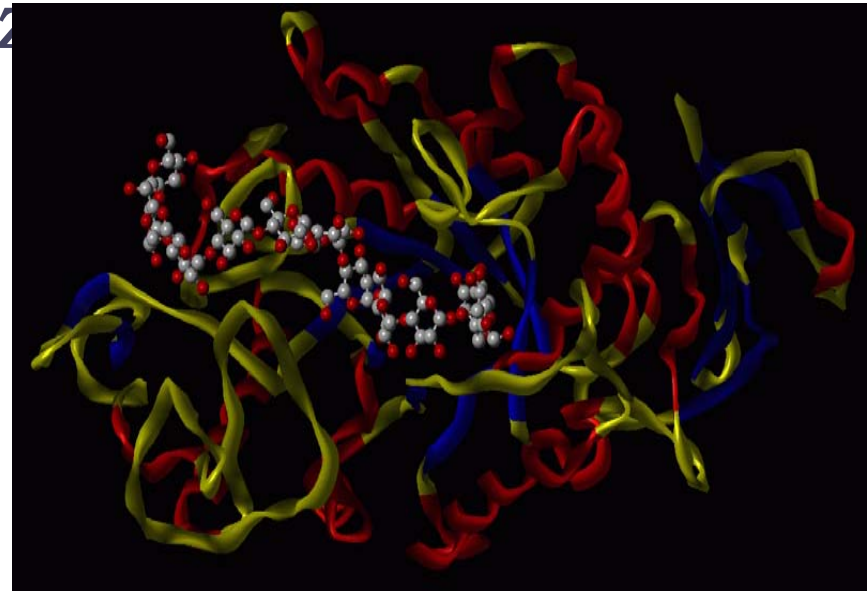
Genome



# A bioinformatika lehetőségei

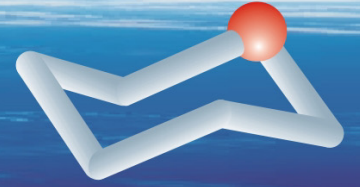


- Enzimtervezés – bioszintézis laboratóriumban
- Genetikai szabályozás
- ... ..
- Etikai kérdések





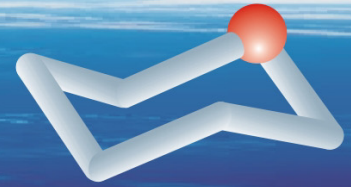
# Genography projekt



- Az emberiség eredete
- A népvándorlások bizonyítása
- A genetikai azonosság és különbözőség



# Genography projekt



```
ATGGAGAAGGTGAAGGGTCTGCTGAAGCCGCGGGCCGACGCCGCAGCAGCA  
GTGGCAGCGCAAGCTCCGCAACGAGTGCCGCGTCCTCGACCGCCAGATCCG  
GAGGGAGGAGAAGAACGTGGAGAAGTCTATCAGGGAGGCTGCAAAGCGC  
GATCCGCAAAGGCTCTTGCTAAGGAACTAGTGAGGTCAAGACGTGCTGTT  
ATGAAAACAAGGCTCAACTAAATTCAGTATCAATGCATCTTGGAGAAATT  
CAAGAACTGTCGGTCACTGTCAAAAAGTGCTGAAGTTATGAAAATCGTT  
TGAAAGCTCCAGAATTGGCTGCCACCATGCAAGAATTTAGTGAAGAAATG  
GGTGTGATGGAAGAGATGGTCAACGATGCAGTTGATTCAGCTTTGGACTC  
GGAGGAGGAAATTGAAGAGGAGGTTGACAAGGTTCTTGCTTCAGTAGCTC  
CCTCACAGCTACCCGATGCTGTGAGGAAACAGAGGATAAACCAAGCTTCA  
GTCCCAGAAGAGCGACAAGCTGTTGCTGAGGGCGCTGATGATGATGAGGA
```

ORIGINAL  
SEQUENCE

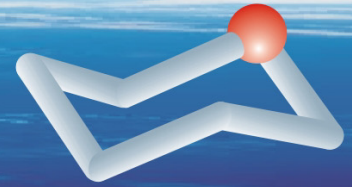


```
ATGGAGAAGGTGAAGGGTCTGCTGAAGCCGCGGGCCGACGCCGCAGCAGCA  
GTGGCAGCGCAAGCTCCGCAACGAGTGCCGCGTCCTCGACCGCCAGATCCG  
GAGGGAGGAGAAGAACGTGGAGAAGTCTATCAGGGAGGCTGCAAAGCGC  
GATCCGCAAAGGCTCTTGCTAAGGAACTAGTGAGGTCAAGACGTGCTGTT  
ATGAAAACAAGGCTCAACTAAATTCAGTATCAATGCATCTTGGAGAAATT  
CAAGAACTGTCGGTCACTGTCAAAAAGTGCTGAAGTTATGAAAATCGTT  
TGAAAGCTCCAGAATTGGCTGCCACCATGCAAGAATTTAGTAAAGAAATG  
GGTGTGATGGAAGAGATGGTCAACGATGCAGTTGATTCAGCTTTGGACTC  
GGAGGAGGAAATTGAAGAGGAGGTTGACAAGGTTCTTGCTTCAGTAGCTC  
CCTCACAGCTACCCGATGCTGTGAGGAAACAGAGGATAAACCAAGCTTCA  
GTCCCAGAAGAGCGACAAGCTGTTGCTGAGGGCGCTGATGATGATGAGGA
```

COPIED  
SEQUENCE



# Genography projekt



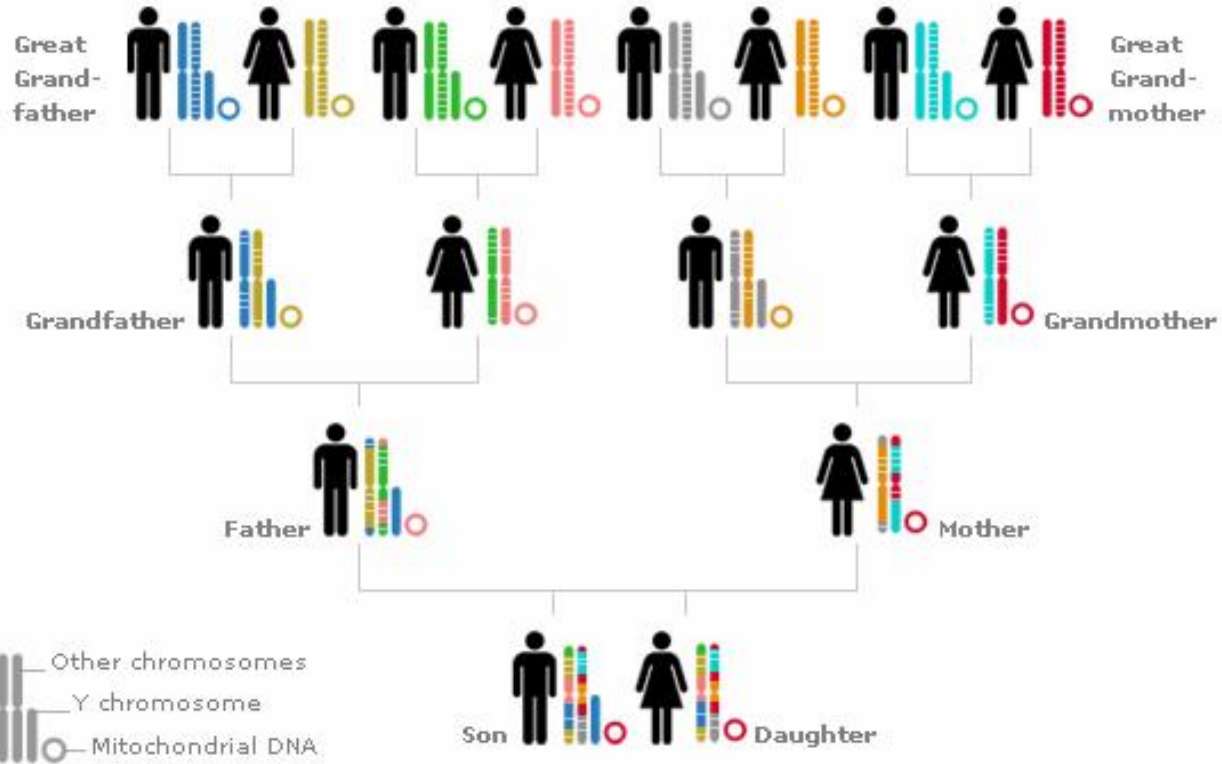
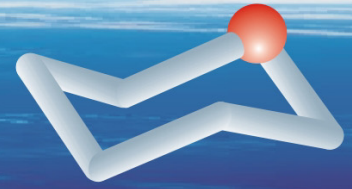
**Congratulations! You found the mutation.**  
There are about 50 random single point changes that distinguish a child's DNA from his or her parents' DNA. **RESET**

AGTGAAG Original  
↓  
AGTAAAG Copy

```
ATGGAGAAGGTGAAGGGTCTGCTGAAGCCGCGGCCGACGCCGCAGCAGCA  
GTGGCAGCGCAAGCTCCGCAACGAGTGCCGCGTCCTCGACCCAGATCCG  
GAGGGAGGAGAAGAACGTGGAGAAGTCTATCAGGGAGGCTGCAAAGCGC  
GATCCGCAAAGGCTCTTGCTAAGGAACTAGTGAGGTCAAGACGTGCTGTT  
ATGAAAACAAGGCTCAACTAAATTCAGTATCAATGCATCTTGGAGAAATT  
CAAGAACTGTCGGTCATCTGTCAAAAAGTGCTGAAGTTATGAAAATCGTT  
TGAAAGCTCCAGAATTGGCTGCCACCATGCAAGAATTTAGTAAAGAAATG  
GGTGTGATGGAAGAGATGGTCAACGATGCAGTTGATTCAGCTTTGGACTC  
GGAGGAGGAAATTGAAGAGGAGGTTGACAAGGTTCTTGCTTCAGTAGCTC  
CCTCACAGCTACCCGATGCTGTGAGGAAACAGAGGATAAACCAAGCTTCA  
GTCCCAGAAGAGCGACAAGCTGTTGCTGAGGGCGCTGATGATGATGAGGA
```



# Genography projekt



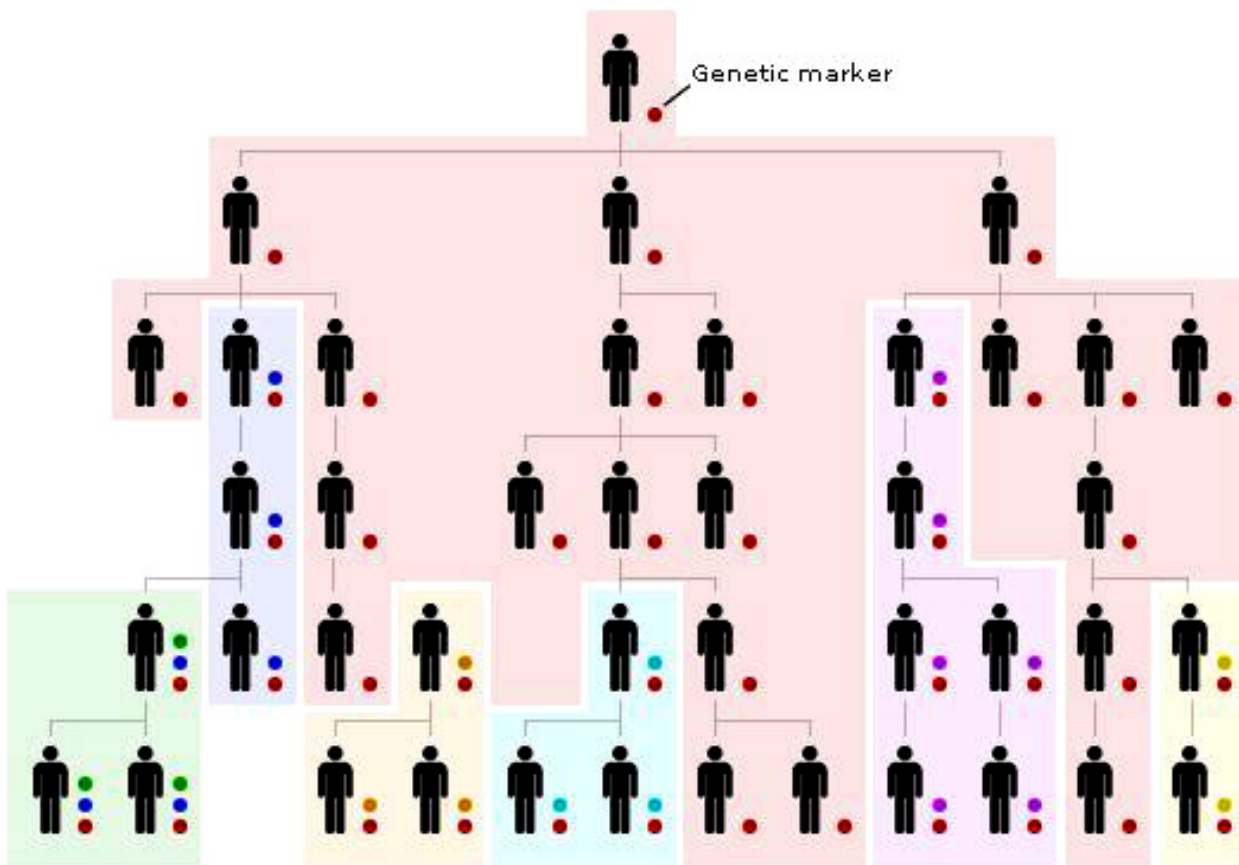
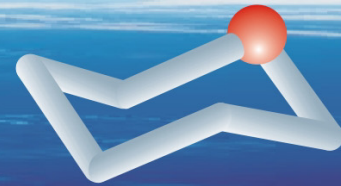
Show both types of DNA

Show recombined DNA

Show non-recombined DNA

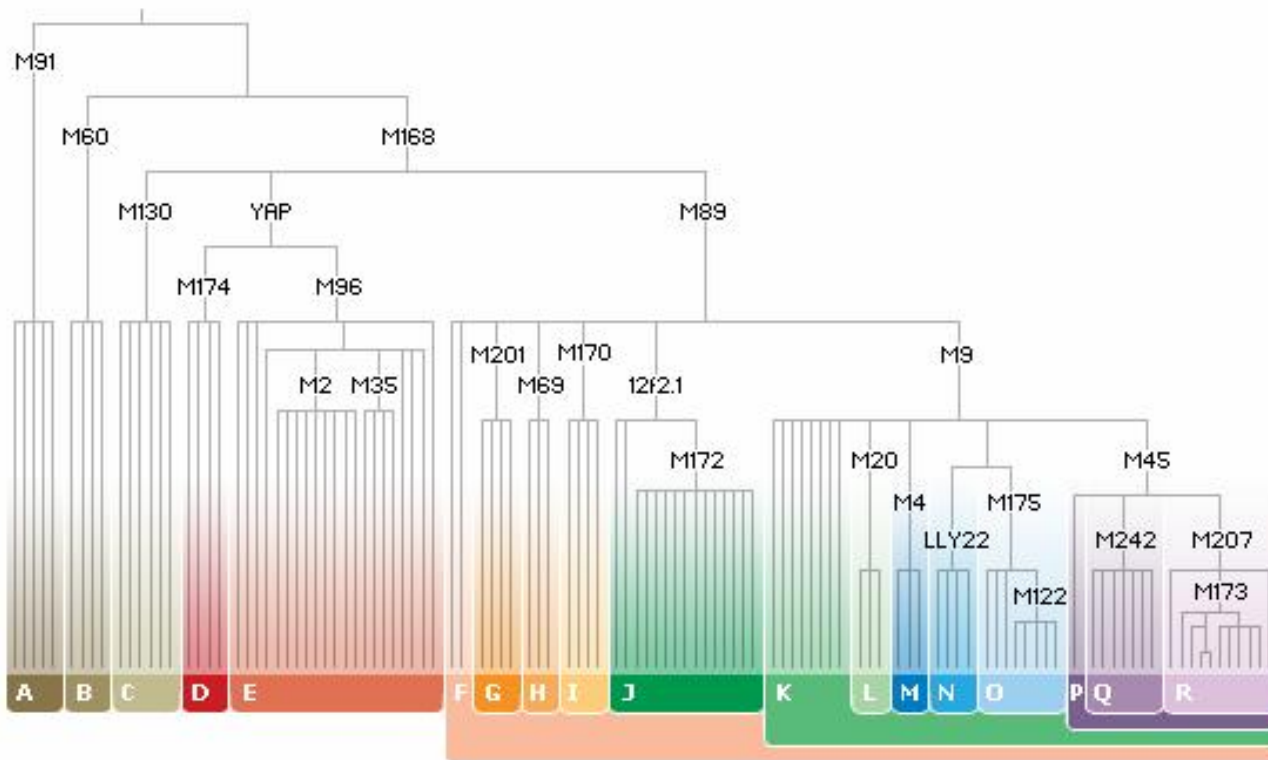
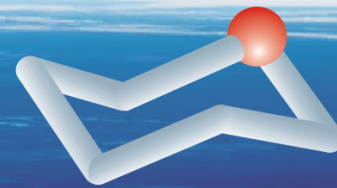


# Genography projekt



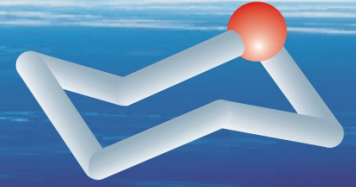


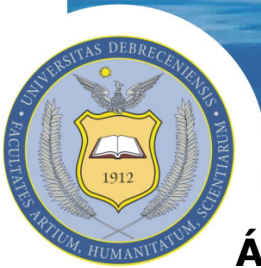
# Genography projekt





# Genography projekt

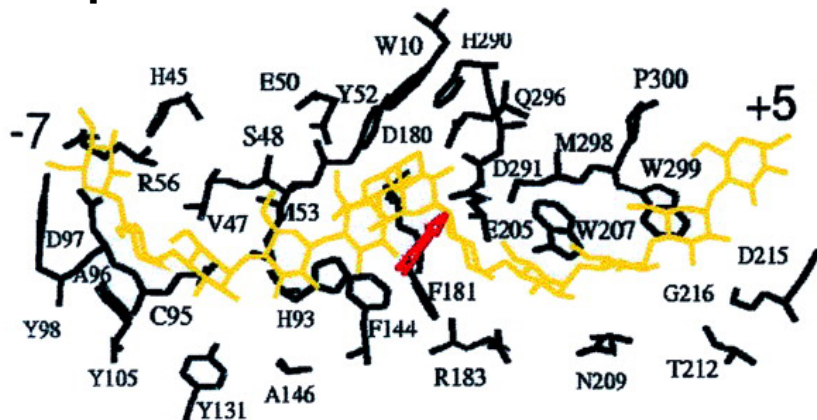




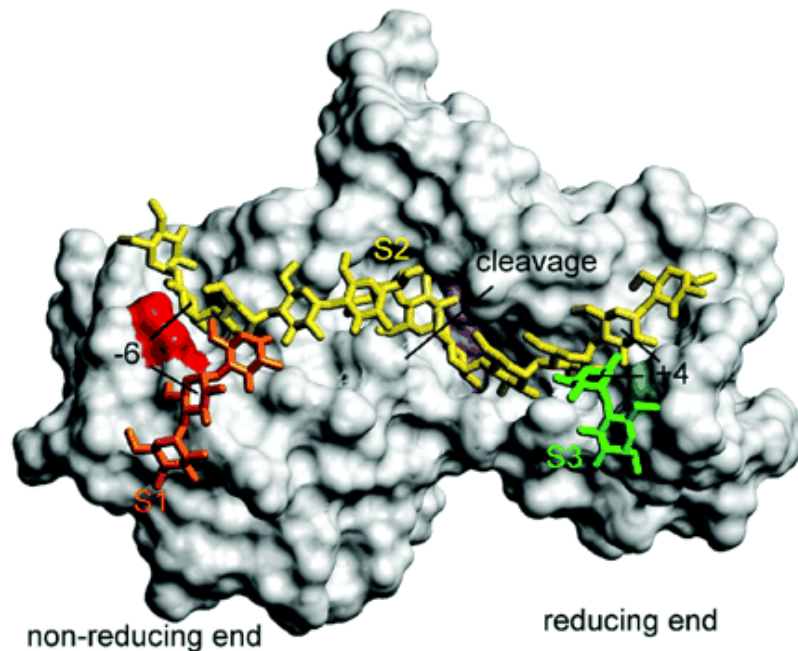
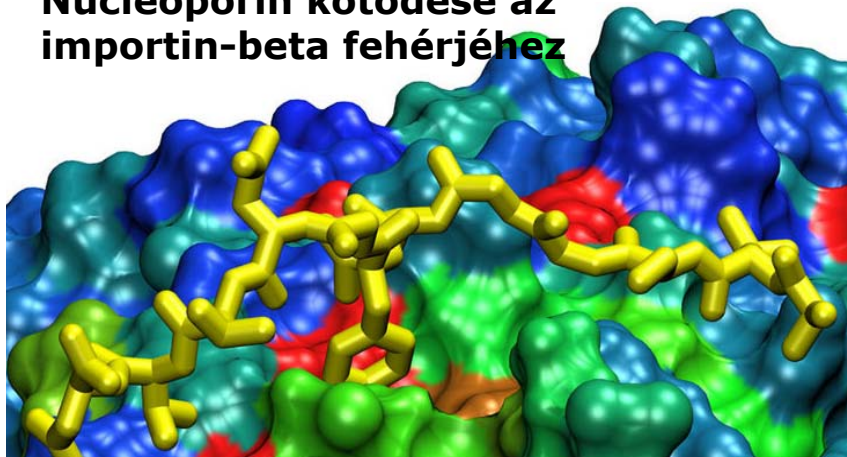
# Ámiláz enzimek vizsgálata molekuláris modellezéssel



## Árpa ámiláz enzim szubsztrátkötő helye

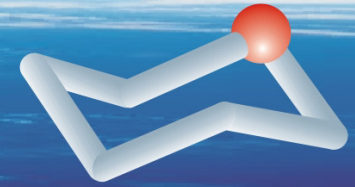


## Nucleoporin kötődése az importin-beta fehérjéhez

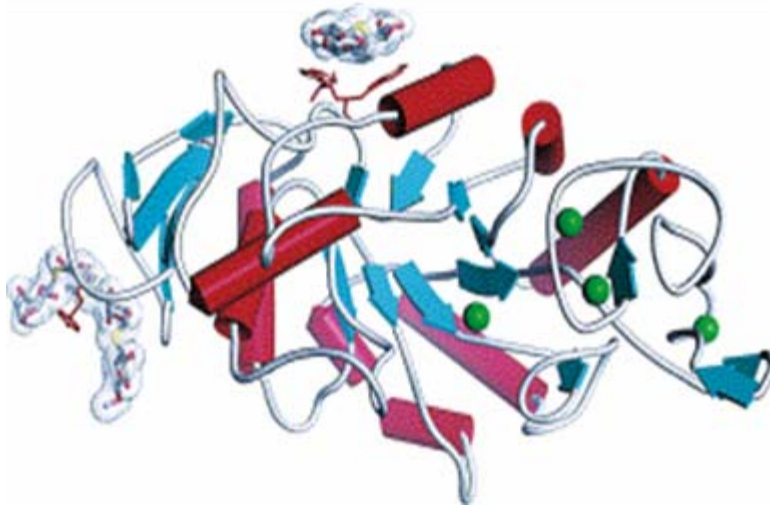
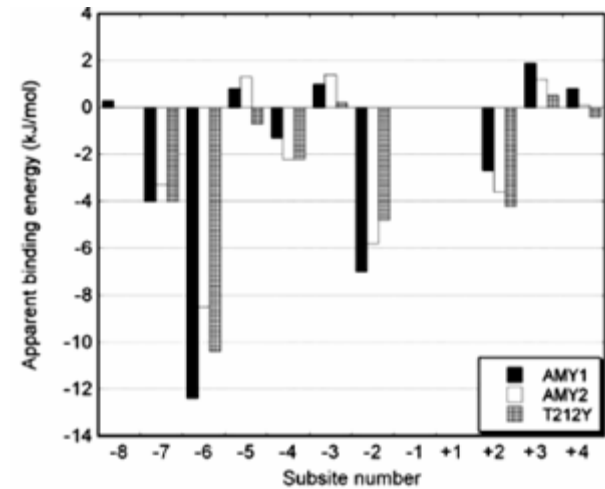


## Árpa ámiláz enzim szubsztráttal

# 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)



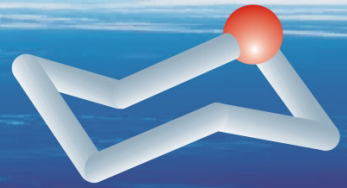
RCSB **PDB**  
PROTEIN DATA BANK



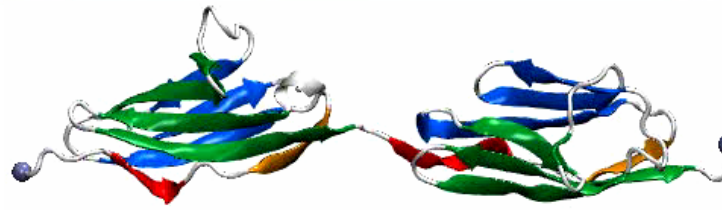
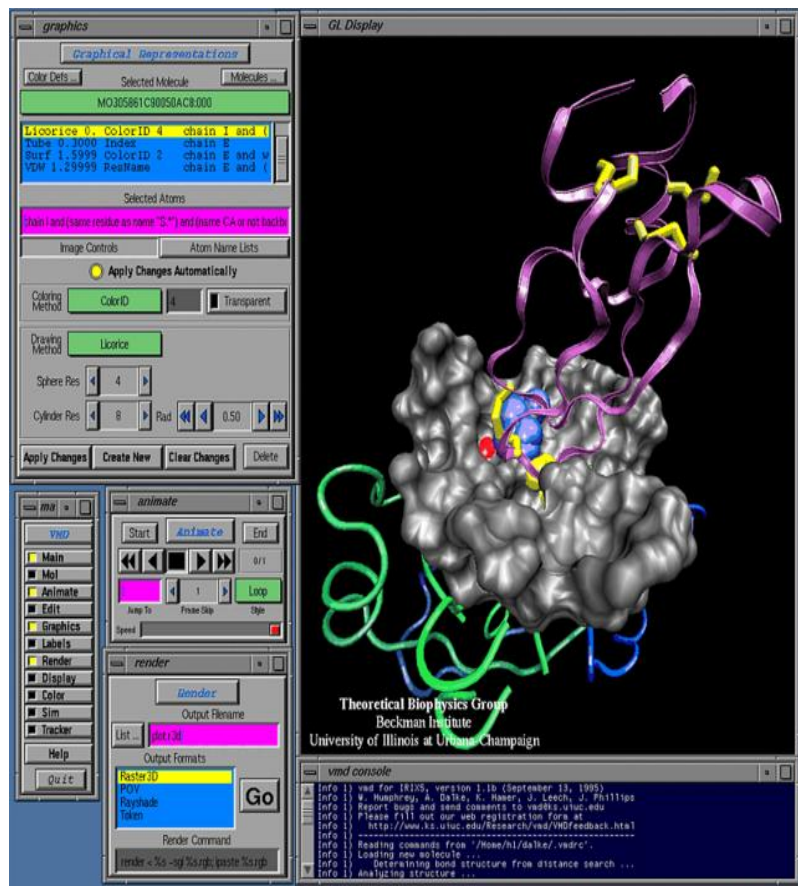
WORLDWIDE  
**PDB**  
PROTEIN DATA BANK



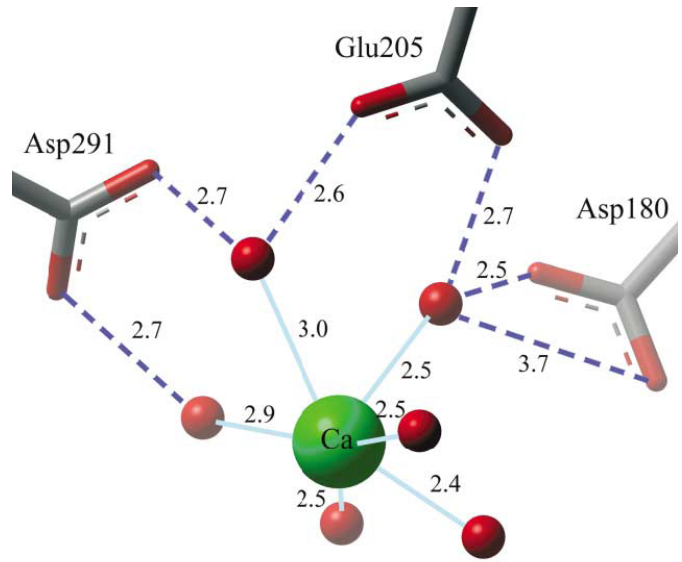
# Molekuláris modellezés



3) molekulamodellés számítógépes programok segítségével



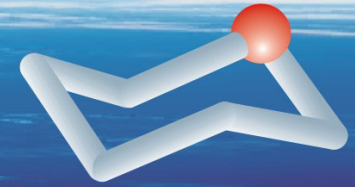
**Molekuladinamika: fehérjék szerkezetének időbeli változását is lehet modellezni**  
**Az ábrán az izomműködés során a titin Z122 fehérje kitekeredése látható**



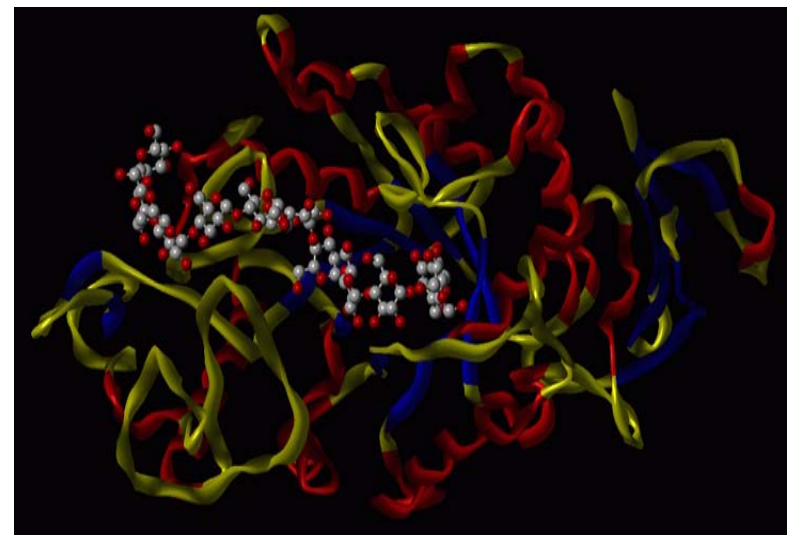
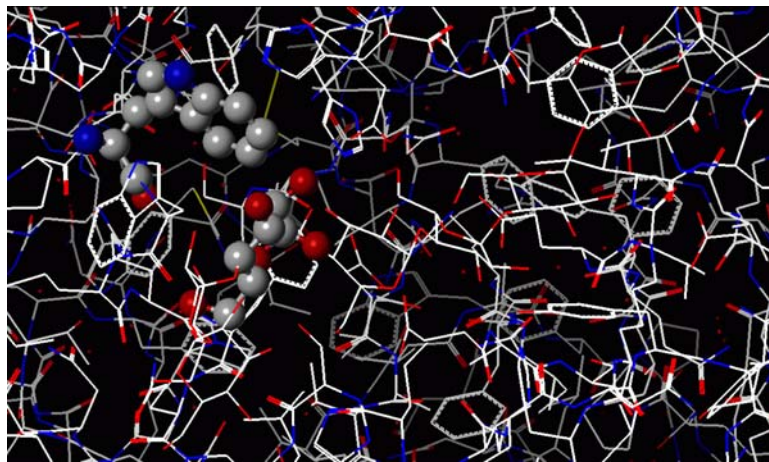
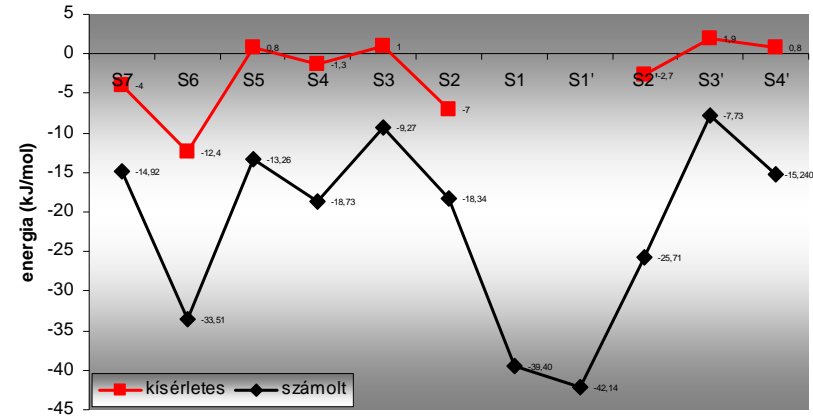
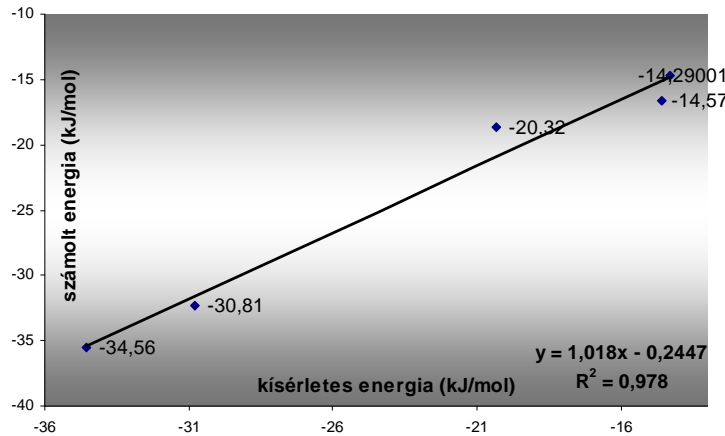
**Kölcsönhatások az árpa amilázban**



# Molekuláris modellezés



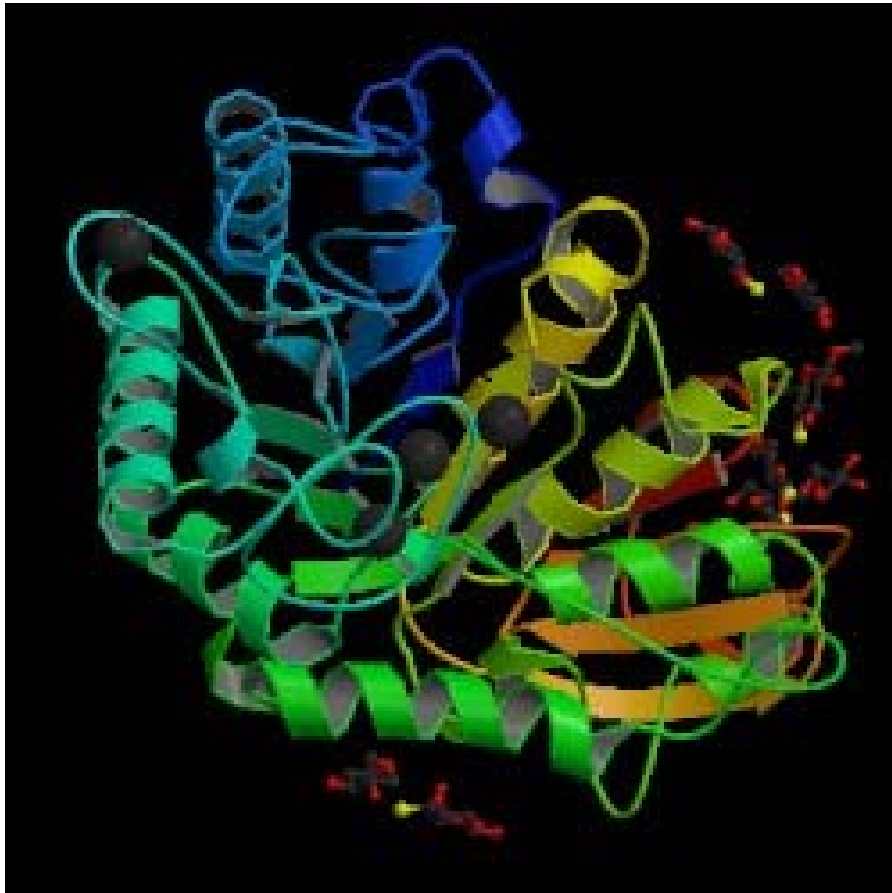
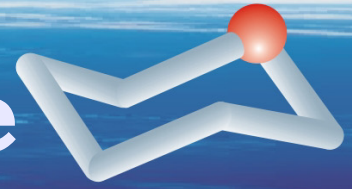
## 4) a kísérletes eredmények igazolása molekuláris modellezéssel



Árpa amiláz enzim mutációja



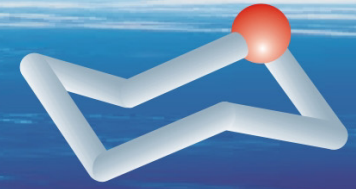
# Amilázok szerkezete



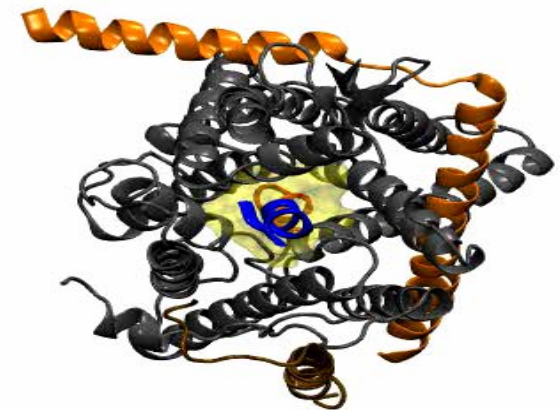
- $\alpha$ -hélixek és  $\beta$ -redők
- hurkok kötik össze  $\rightarrow$  alhelyek
- változatos alhely szerkezet
- eredettől függ



# A modellezés folyamata



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



# A (bio)informatika hatása az emberi evolúcióra

