

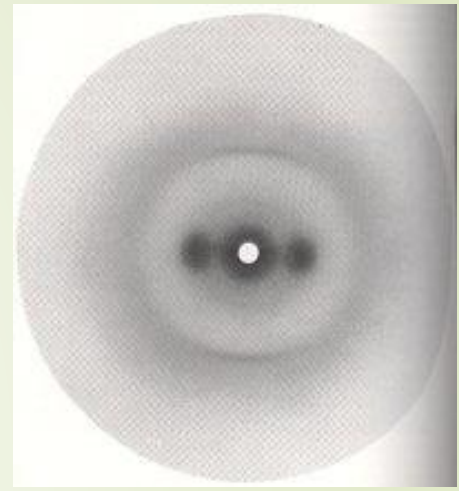
„Resolution revolution”: Nobel-díj a krio-EM kidolgozóinak



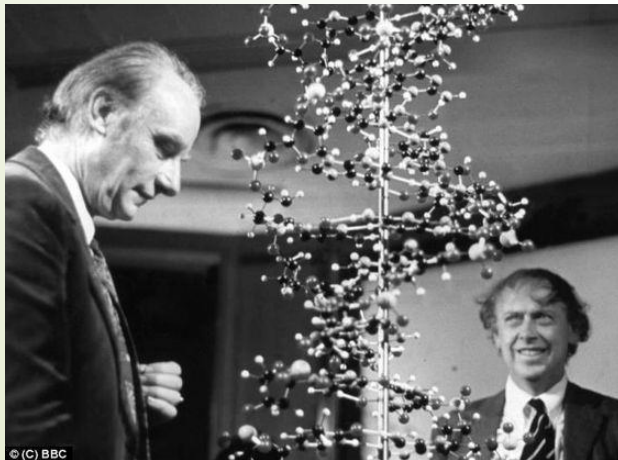
***Nyitray László
ELTE, Biokémiai Tanszék***

A szerkezeti biológia története dióhéjban

- 1930-as évek William Astbury
- (a molekuláris biológia névadója)



- 1962-es Nobel díjak:
J. Watson & F. Crick,

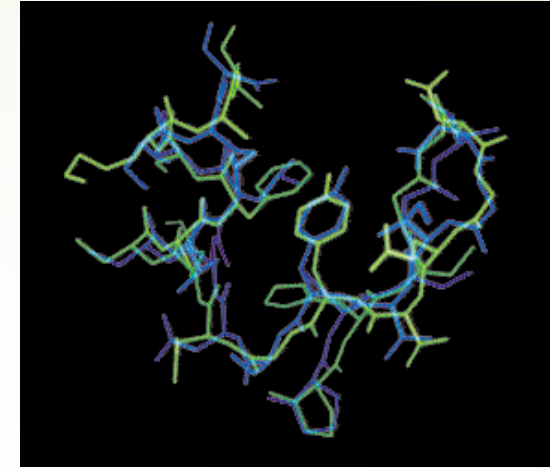
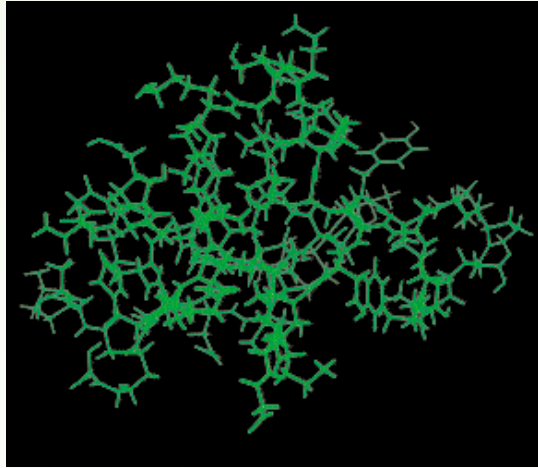


- Astbury és X-ray készüléke
- Mozart haja (keratin)
- J. Kendrew & M. Perutz



A szerkezeti biológia története dióhéjban

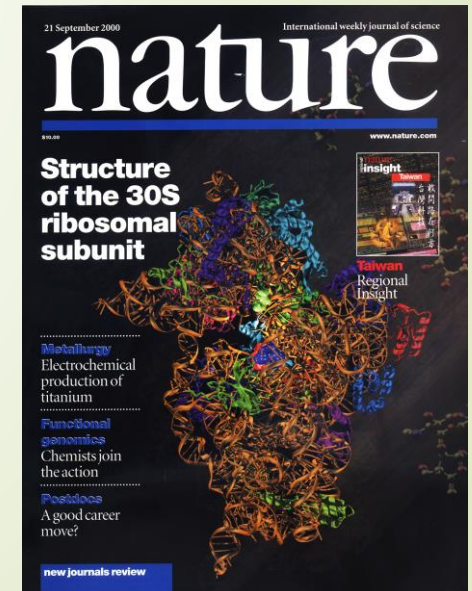
- 2002-es Nobel-díj:
Kurt Wütrich (NMR)



Bikasperma proteináz inhibitor
(JMB, 1985)

- 2009-es Nobel-díj: riboszóma X-ray szerkezet
A. Yonath, T. Steitz and V. Ramakrishnan

*Riboszóma atomi-felbontású
kristályszerkezete* (Nature, 2010)



EM a molekuláris szerkezetkutatásban

- EM: 1930-as évek, Ernst Ruska (Nobel-díj, 1986)
- R. Feynman (1959): „*It is very easy to answer many fundamental biological questions; you just look at the thing!*”
- Direkt kép, de számos probléma
 - kontrasztosítás, vákuum, vízjég, 2D→3D
- Első áttörés ('90-as évektől): „blob-ology” ($\sim 10 \text{ \AA}$)
 - „Single particle” analízis és minta vitrifikált vízben
- 2013-tól forradalmi áttörése: „near-atomic resolution”
 - detektorok, statisztikai analízis

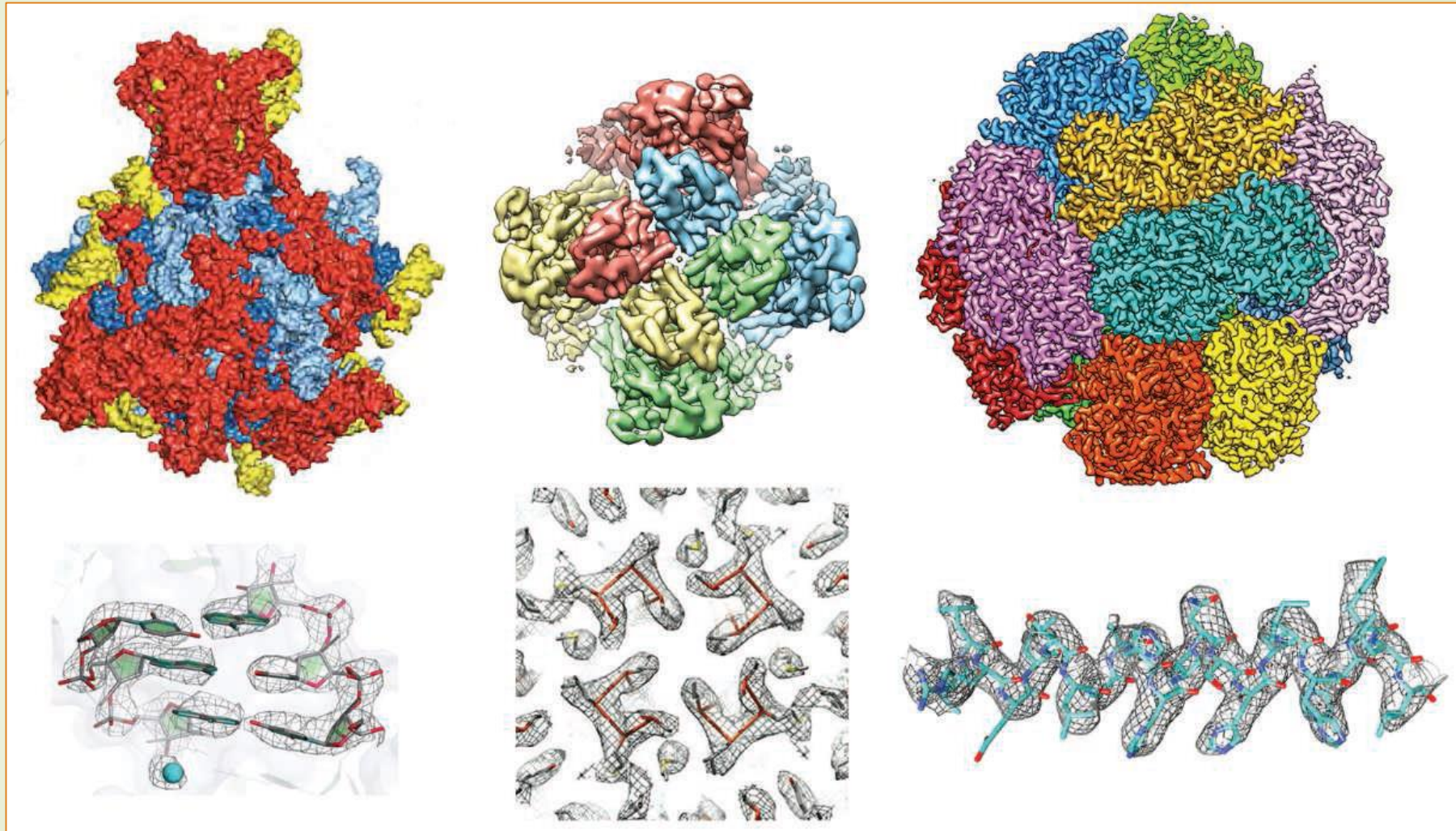


Ruska-féle EM (1933)



Titan Krios (FEI)

Az év módszere 2016-ban: „single particle cryo EM”



Élesztő mt riboszóma, 3,2 Å
Science, 2014

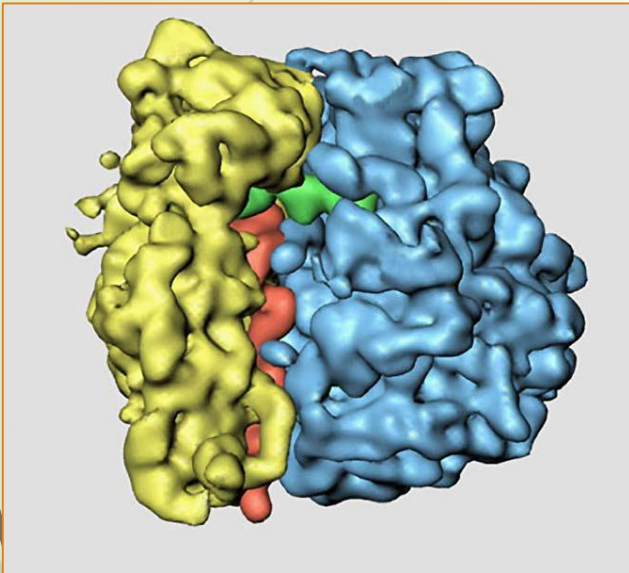
Kapszaicin-receptor, 3,4 Å
Nature, 2013

F420-[NiFe]-hidrogenáz, 3,4 Å
eLife, 2014

„The Resolution Revolution”

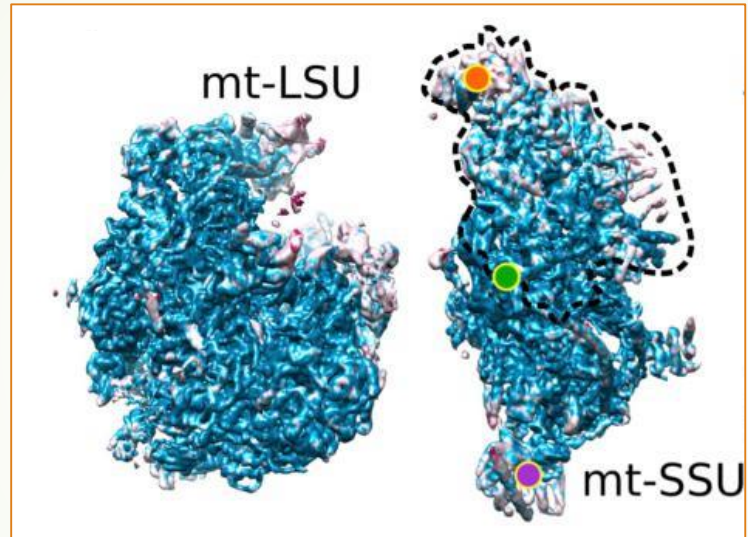
(W. Kühlbrandt, Science 2014)

E. coli riboszóma, 11,5 Å



Cell, 2000

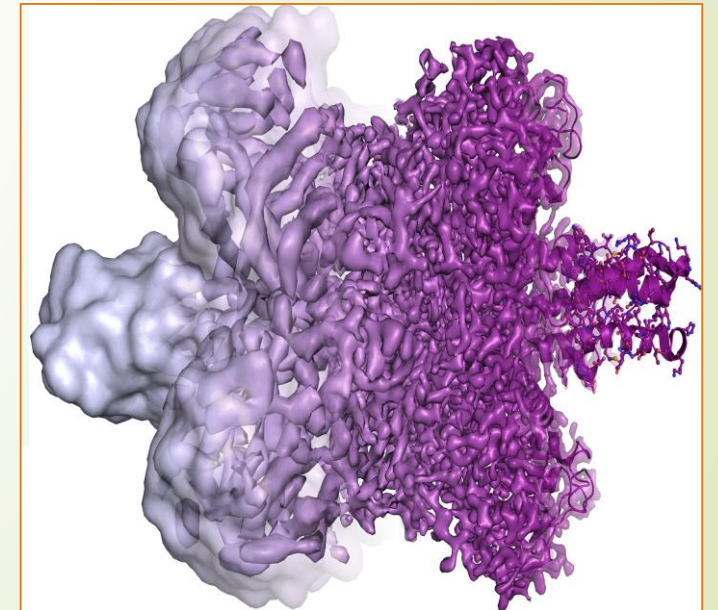
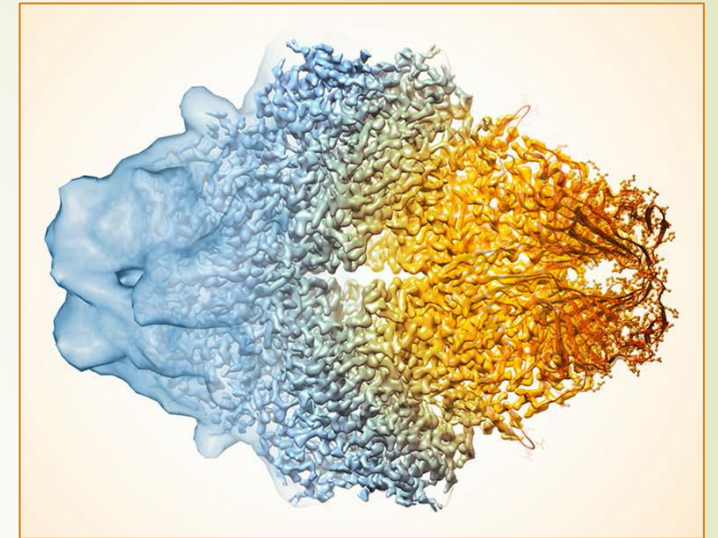
Science, 2015



Humán mt riboszóma, 3,5 Å

β -galaktozidáz, 2,2 Å (fent) és
glutamát-dehidrogenáz, 1,8 Å (lent)

Science, 2015

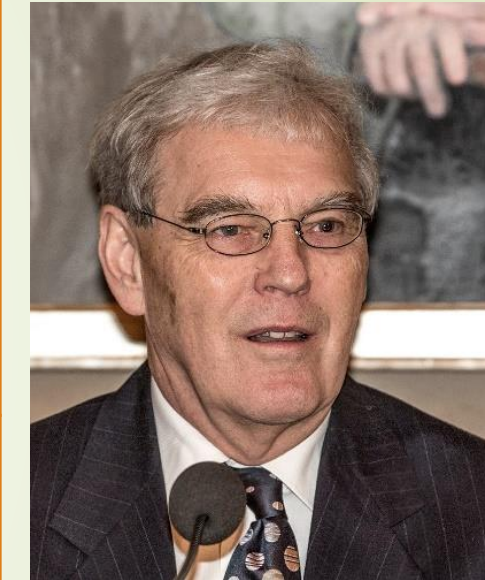
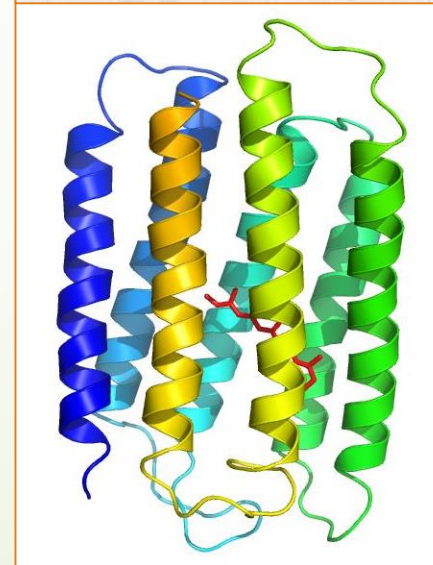
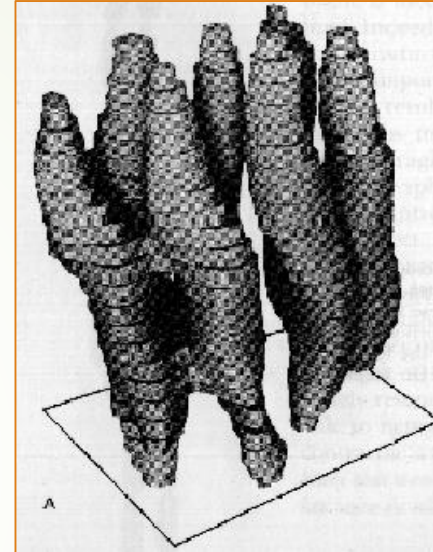
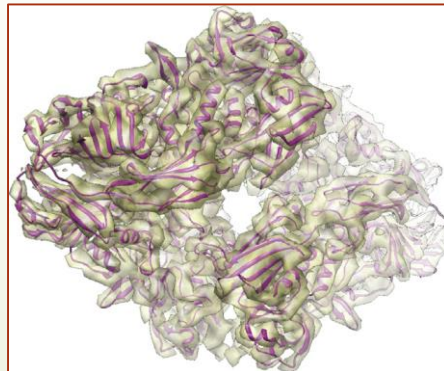


Cell, 2016

Nobel-díj 2017: Richard Henderson

- Az úttörő és aki az utat mutatotta...
- Elektron kristallográfia (BRd)
 - 1975: $7,5 \times 14 \text{ \AA}$; 1990: $3,5 \times 10 \text{ \AA}$
- 1990: *"This would then turn the technique... to be used on many more difficult specimens, eventually including non-crystalline molecular assemblies"*
- Direkt elektron detektorok kifejlesztése
 - CCD helyett CMOS technológia
- Validálási módszerek

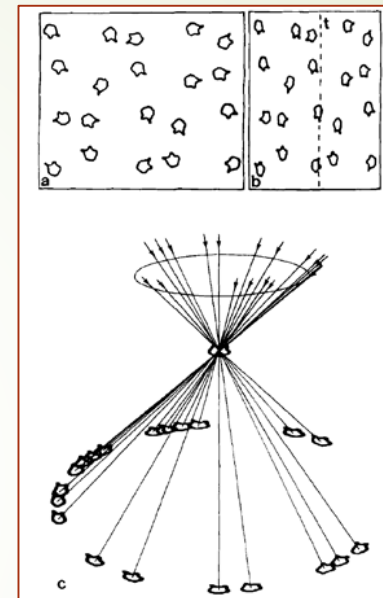
β -galaktozidáz
(*Ultramicrosc.*, 2013)



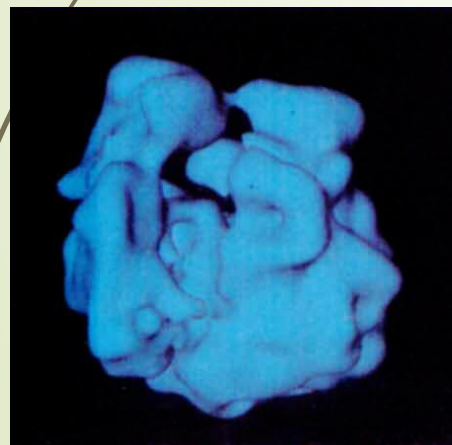
bakteriorodopszin
Nature, 1975 (fent)
JMB, 1990 (lent)

Nobel-díj 2017: Joachim Frank

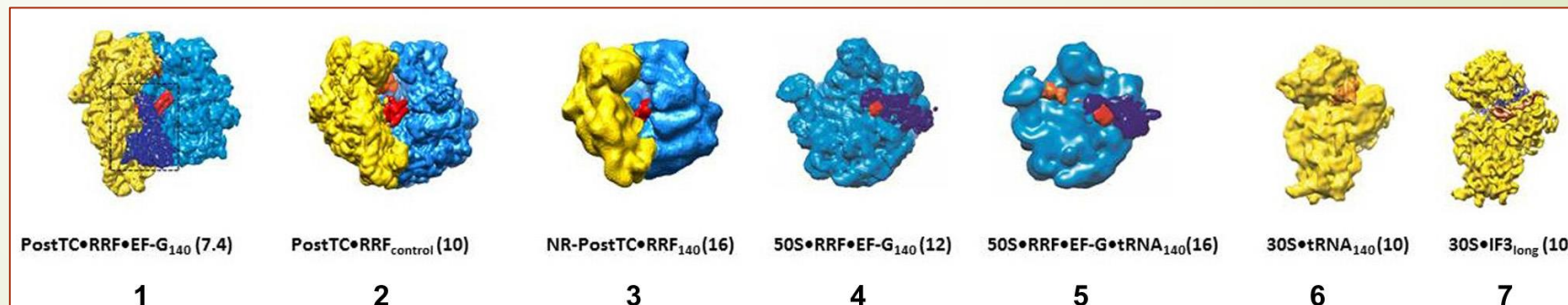
- A 3D képrekonstruktor...
- 1975-től matematikai statisztikai módszerek (SPIDER)
- 1995: riboszóma 25 Å felbontásban
- 2015-: „time-resolved cryo-EM”



„random conical tilt” módszer
(J. Microsc. 1987)



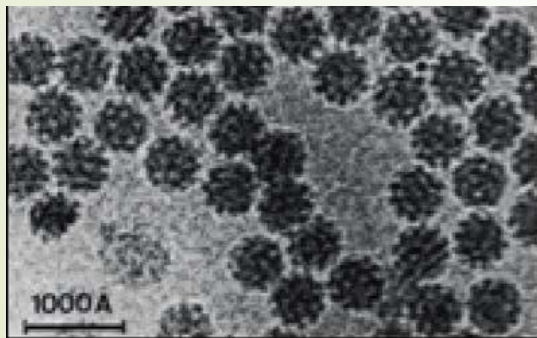
E. coli riboszóma
(Nature, 1995)



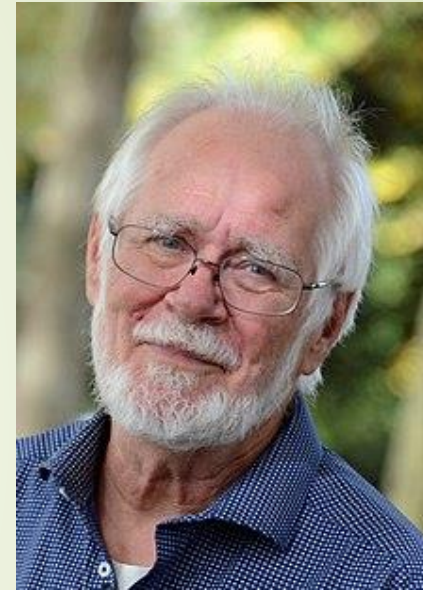
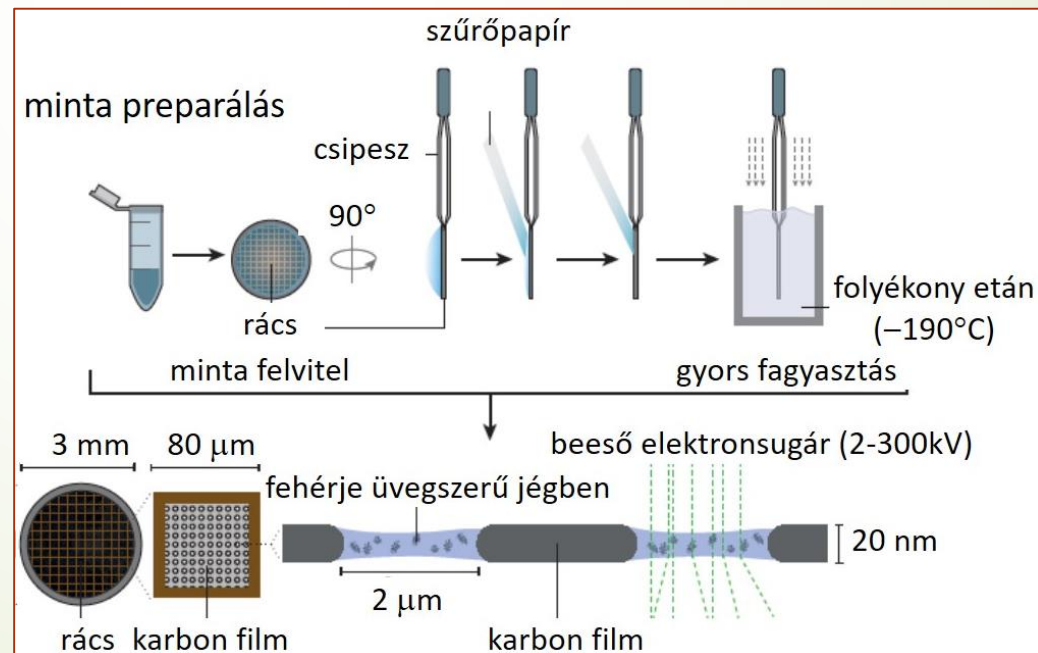
riboszóma reciklizálás „time-resolved” krio-EM
(Structure, 2016)

Nobel-díj 2017: Jacques Dubochet

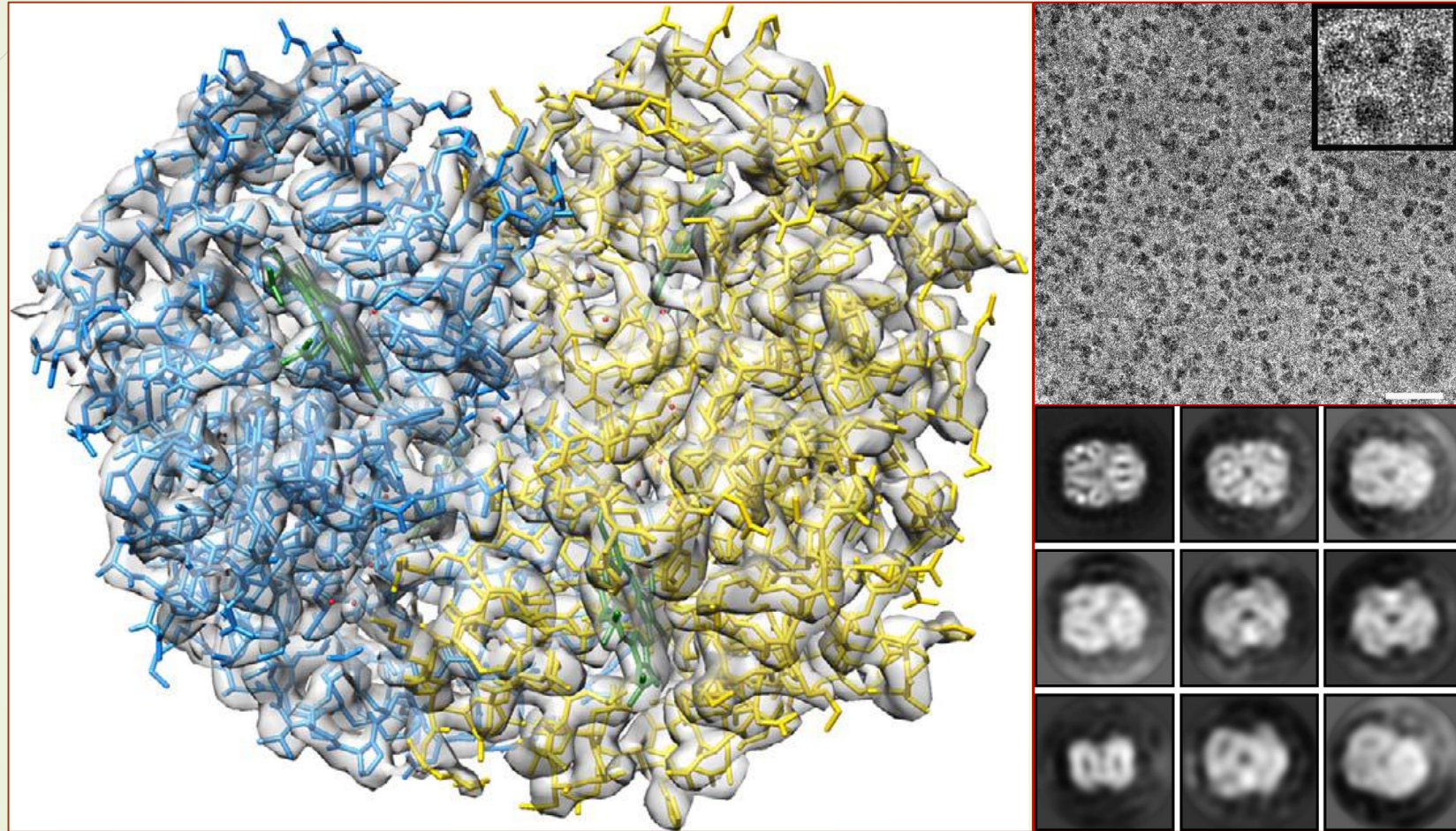
- Az amorf jéggyártó...
- 1981-87: kriofixáció kidolgozása
 - Extrém gyors fagyasztás folyékony etánban ($10^8/\text{K}$)
 - *"The most abundant constituent of living things, water, has invariably been excluded"*



Semliki vírus
(QRBiophys, 1988)

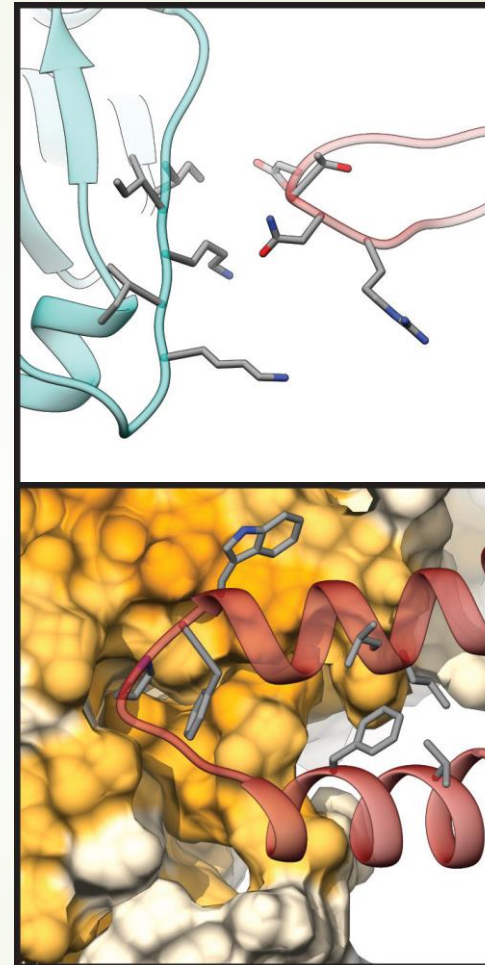
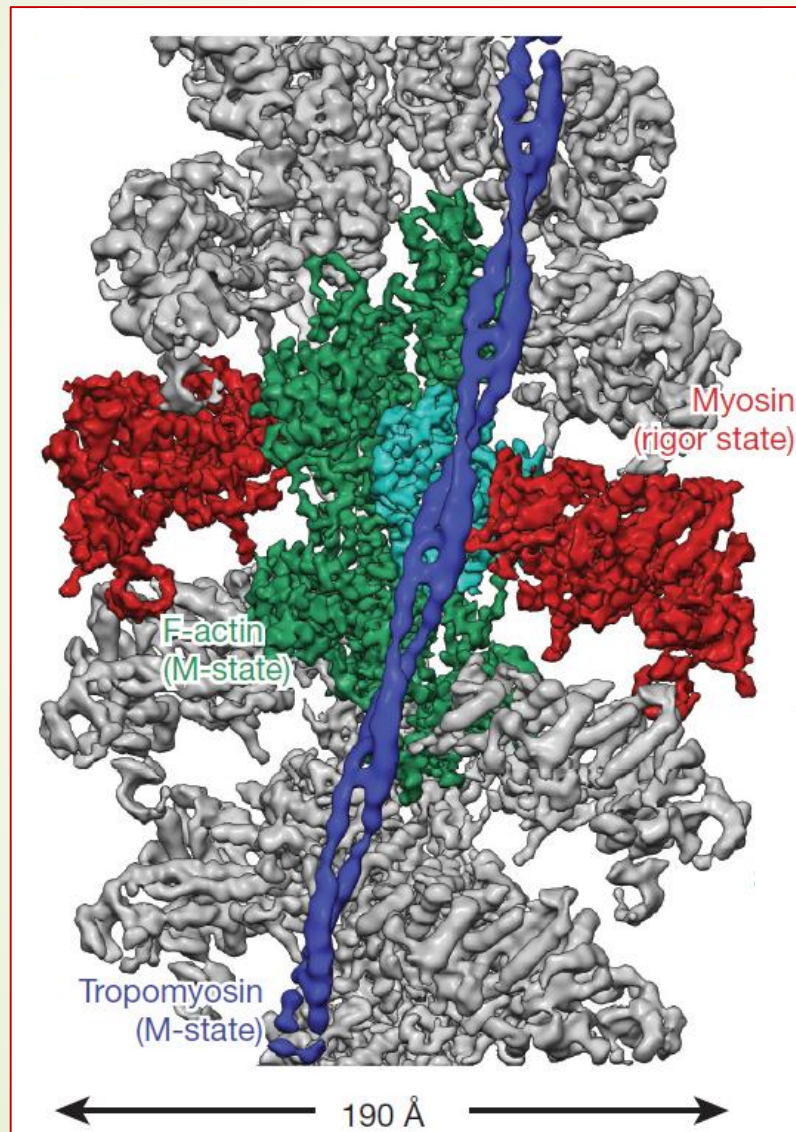


Kedvenceim...



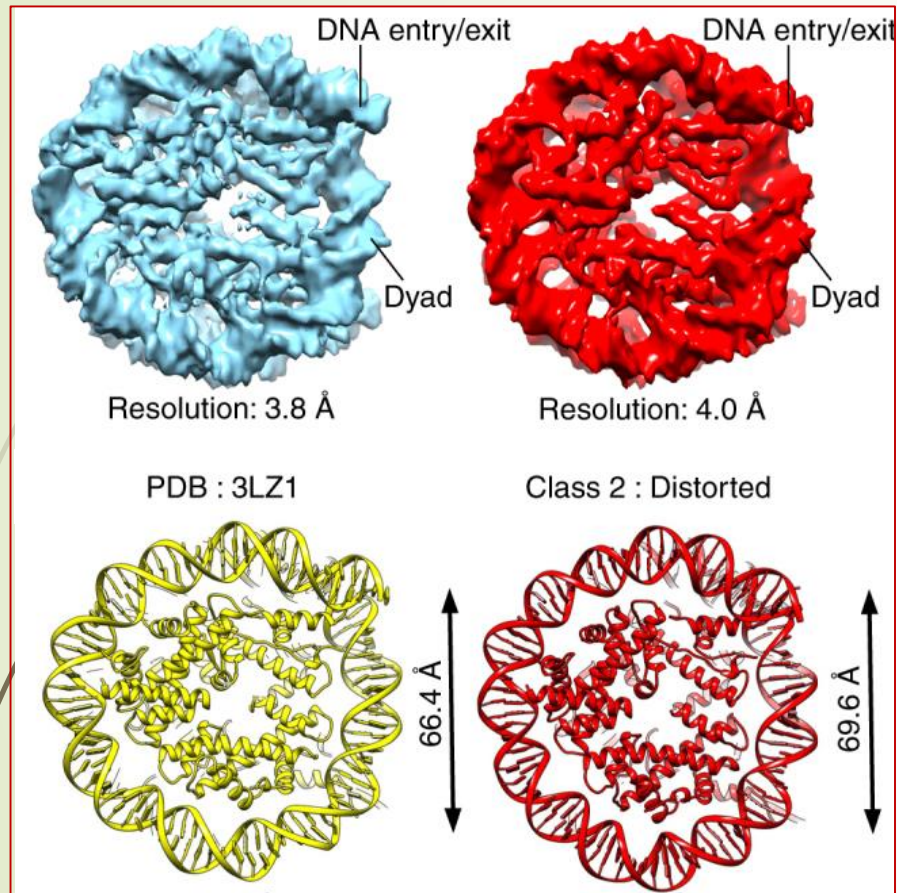
„A rekorder”: hemoglobin (64 kD, 3,2 Å)
(Nature, 2017)

Kedvenceim...

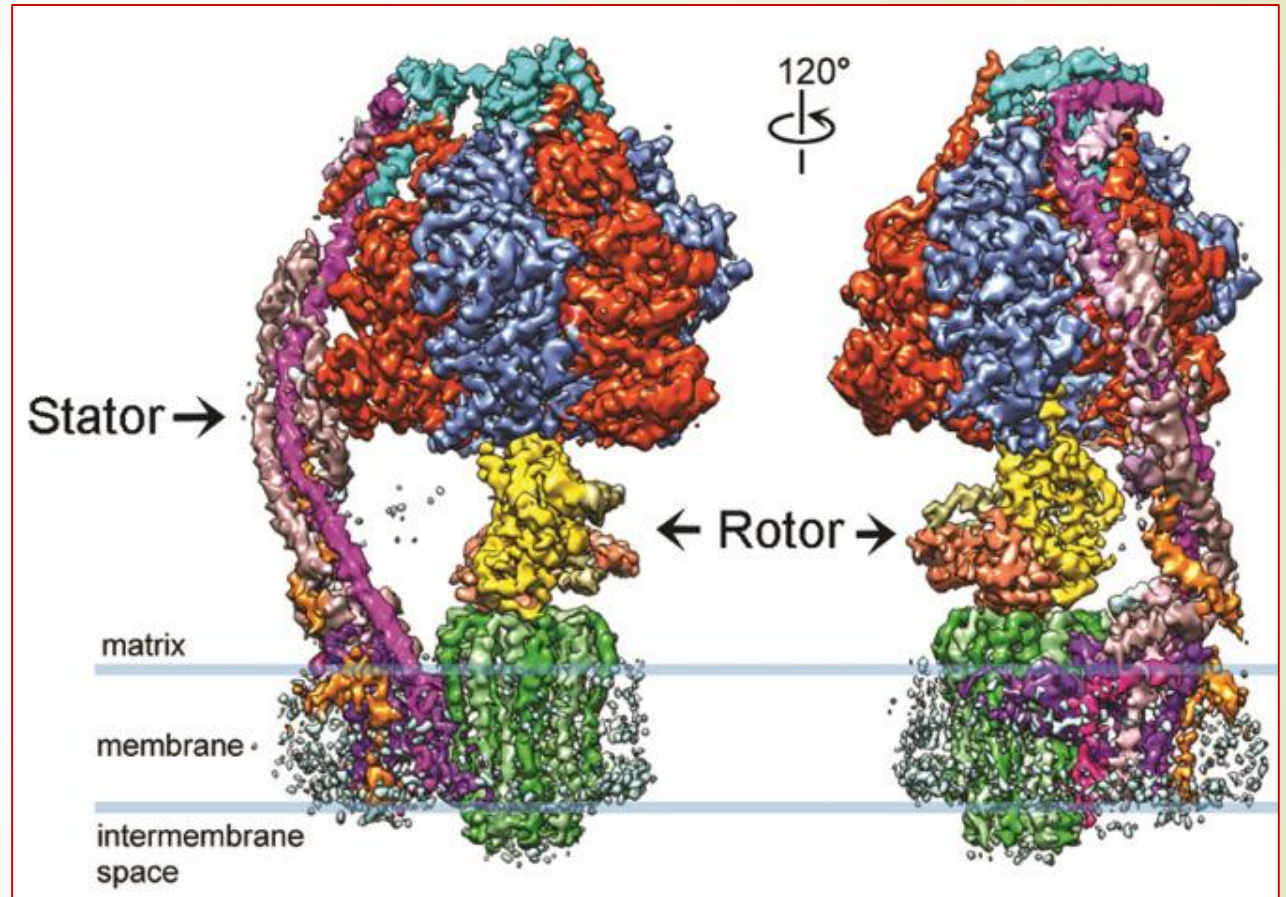


Aktomiozin + tropomiozin (3,9 Å)
(Nature, 2016)

2018 április kedvenceim...

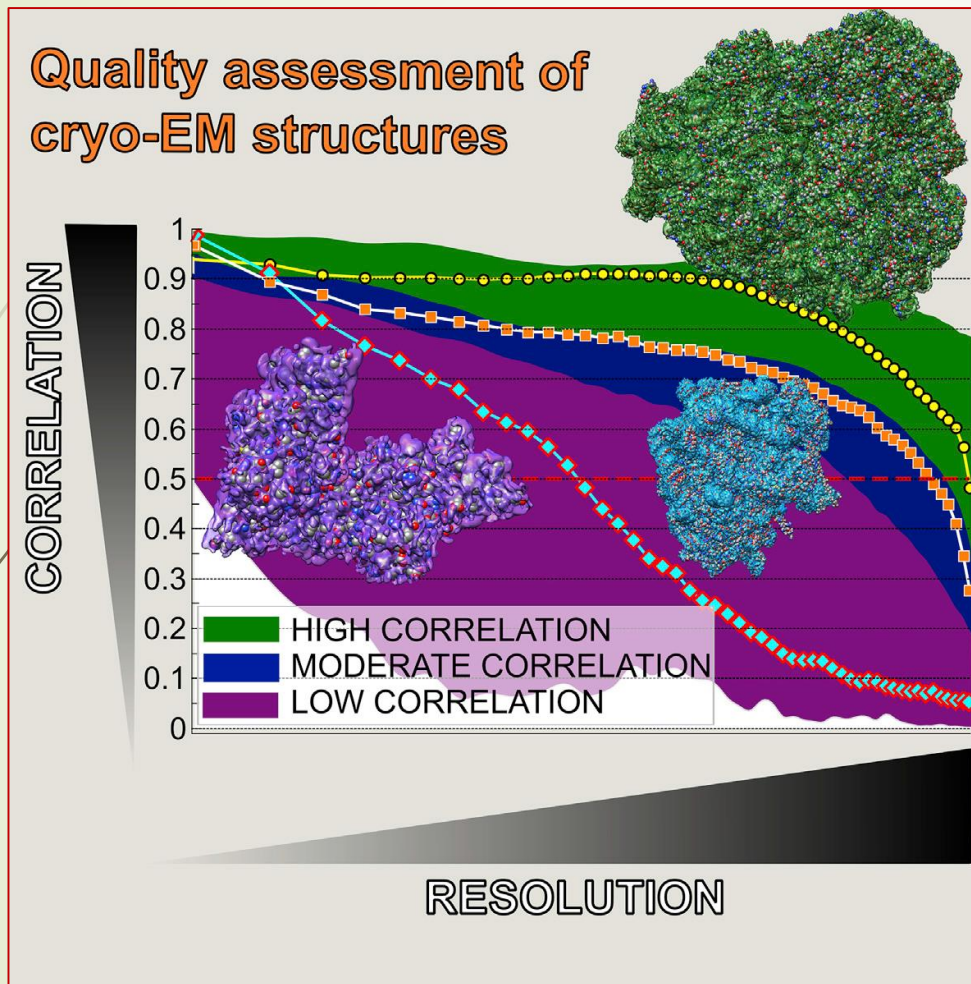


**Nukleoszóma transzlokáció
(remodellálás) (Nat. Comm., 2018)**

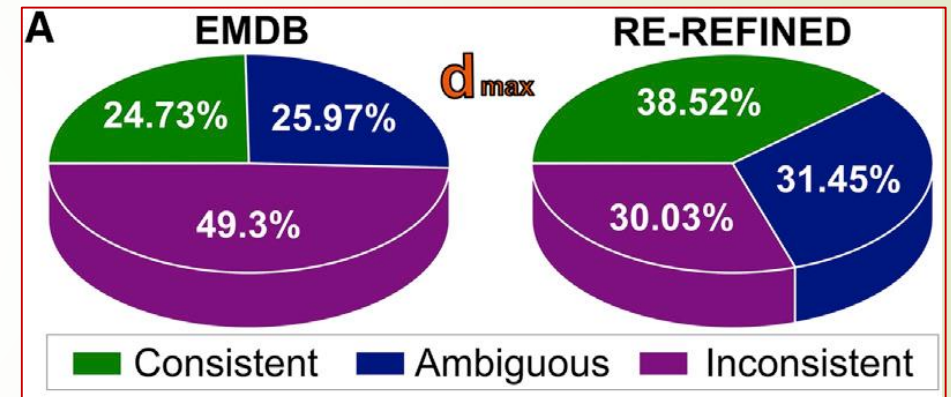


**ATP-szintáz lipid környezetben
(Science, 2018)**

2018 április kedvenceim...



A „resolution revolution” validálása
(Structure, 2018)



Óvatosság! A modellek $\frac{3}{4}$ -e
nem teljesen konzisztens az
adatokkal