



PÁZMÁNY

Pázmány Péter Katolikus Egyetem

Információs Technológiai és Bionikai Kar



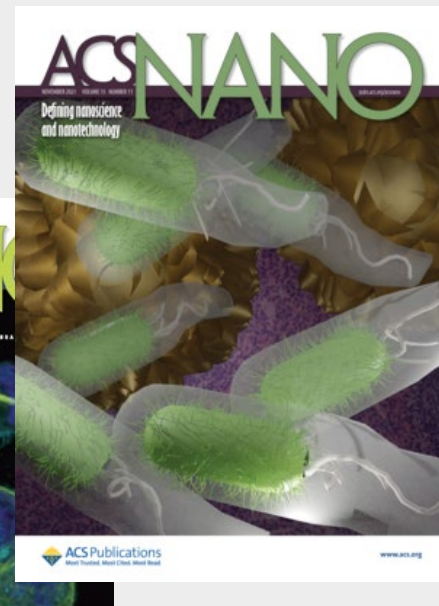
Katolikus
Pedagógiai
Intézet

Középiskolai kémia tanárok szaktárgyi továbbképzése

2022. október 28.

A BIONANOTECHNOLÓGIA MINT A SZUPRAMOLEKULÁRIS KÉMIA ÚJ TERÜLETE

Kémia továbbképzés,
2022.10.28.

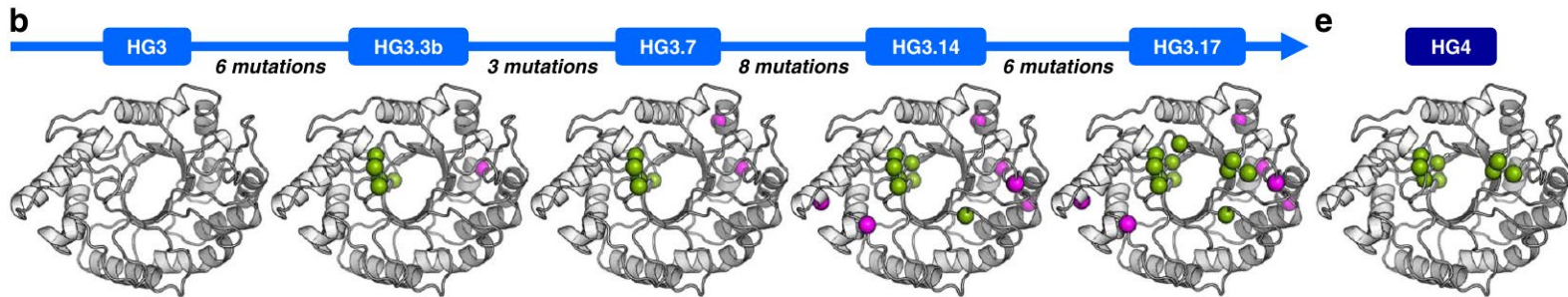
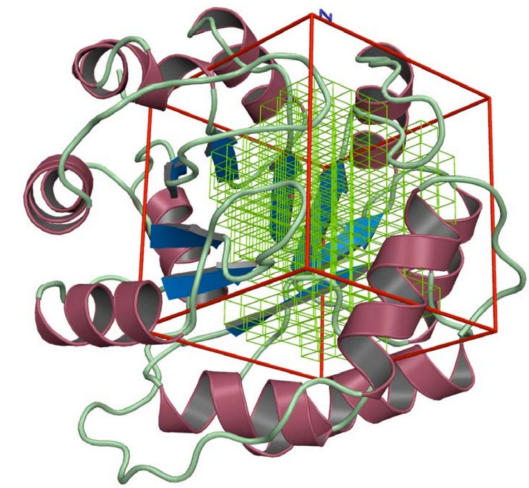


Gáspári Zoltán

PPKE ITK

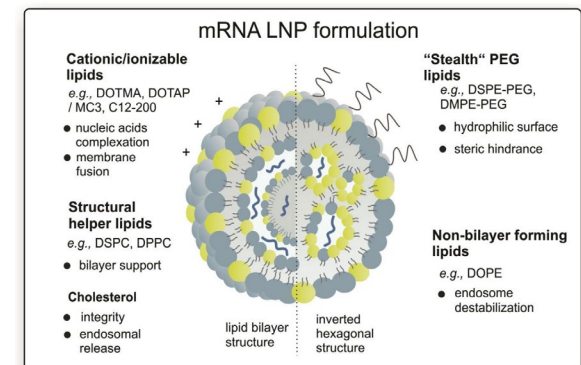
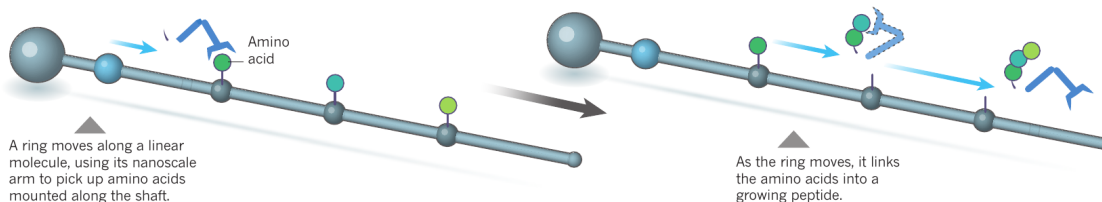
MI A BIONANOTECHNOLÓGIA?

- - Adott funkciójú fehérjék, nukleinsavak előállítása:
- - számítógépes tervezés
- - irányított evolúciós rendszerek

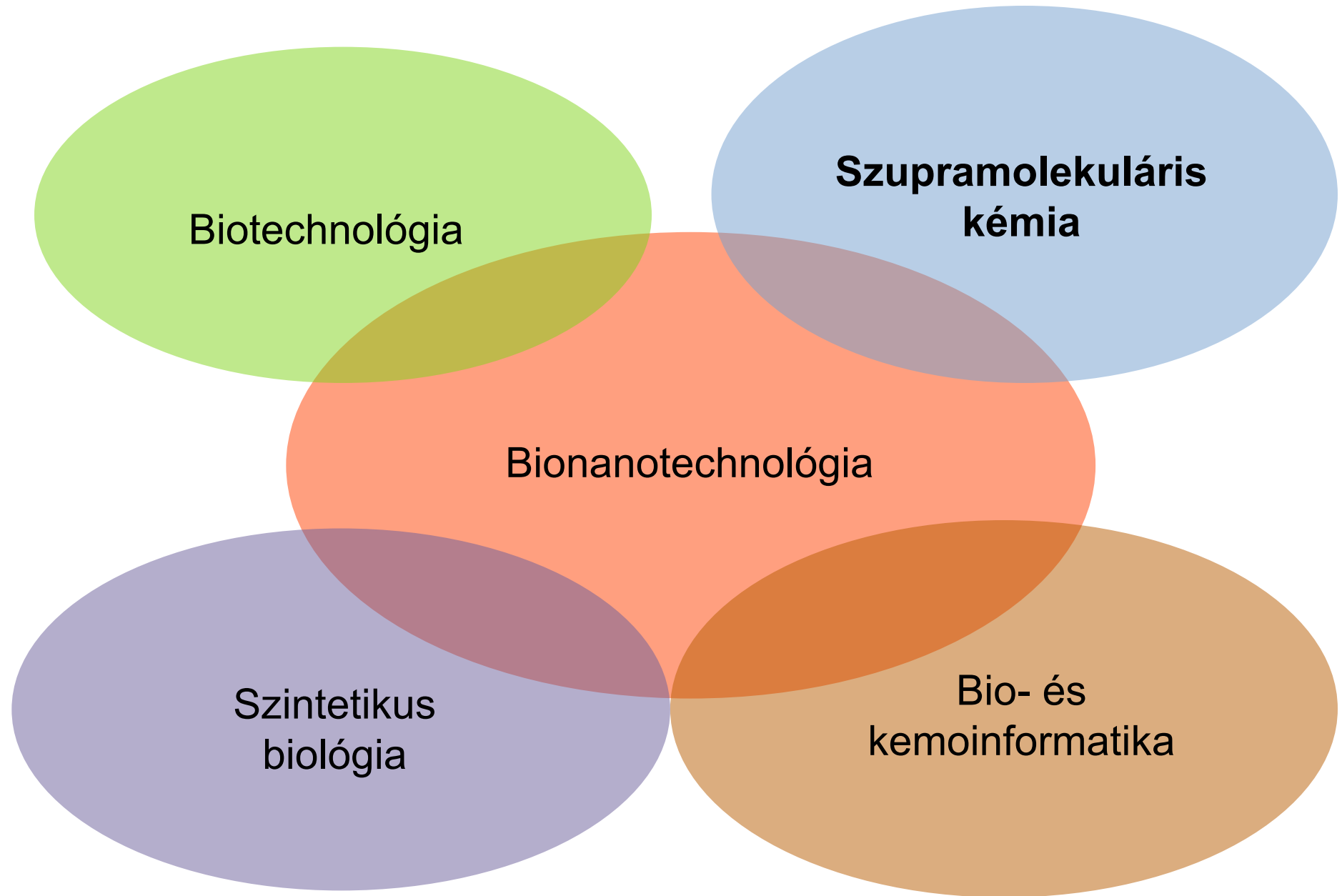


- - Szupramolekuláris rendszerek tervezése és előállítása
- - Epitopok és hatóanyagok hordozására alkalmas nanorészecskék
- - Funkcionális, biokompatibilis nanorobotok

MOLECULAR ASSEMBLY LINE A machine with a nanoscale 'arm' can connect amino acids together to make a peptide.



MI A BIONANOTECHNOLÓGIA?



AZ ÖNSZERVEZŐDÉS (SELF-ASSEMBLY)

Példák:

lipidek

fehérjék

ciklodextrin
komplexek

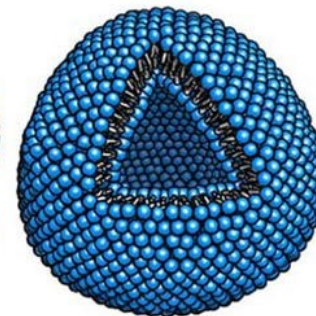
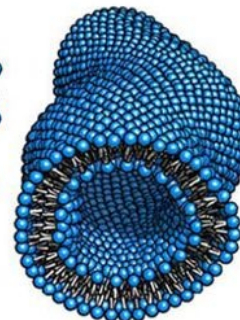
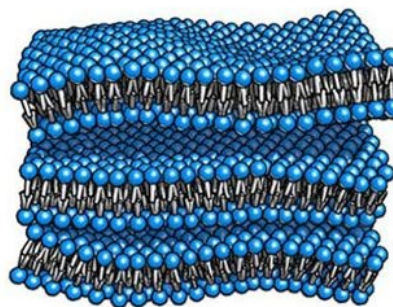
- A “megszokott” intermolekuláris kölcsönhatások irányítják:

- H-hidak
- hidrofób kölcsönhatás
- ionos kölcsönhatás
- VdW/London diszperziós erők
- pi-pi kölcsönhatás

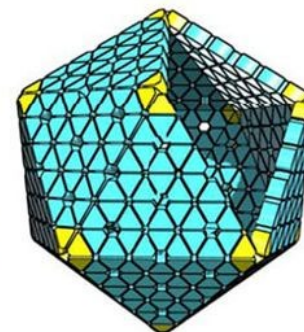
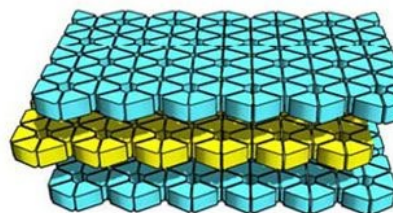
- Biomolekuláris rendszerekben „mindennapos”:

- fehérjefeltekeredés
- nukleinsav hibridizáció
- fehérjekomplexek összeállása (pl. vírus kapszid)
- lipid micellák, vezikulák stb.

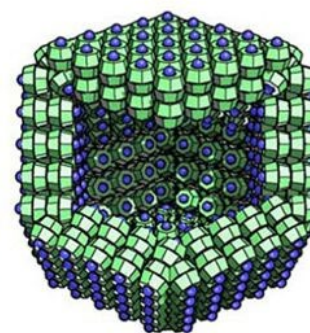
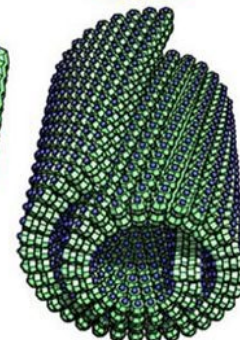
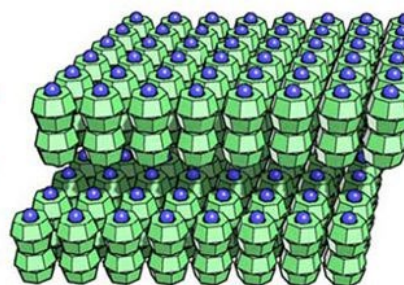
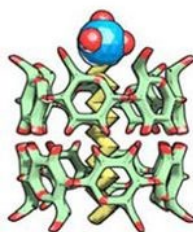
a



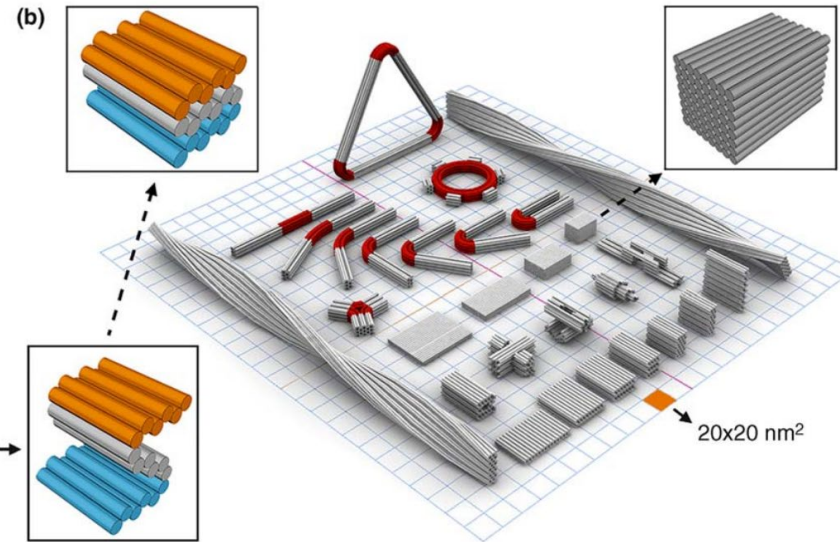
b



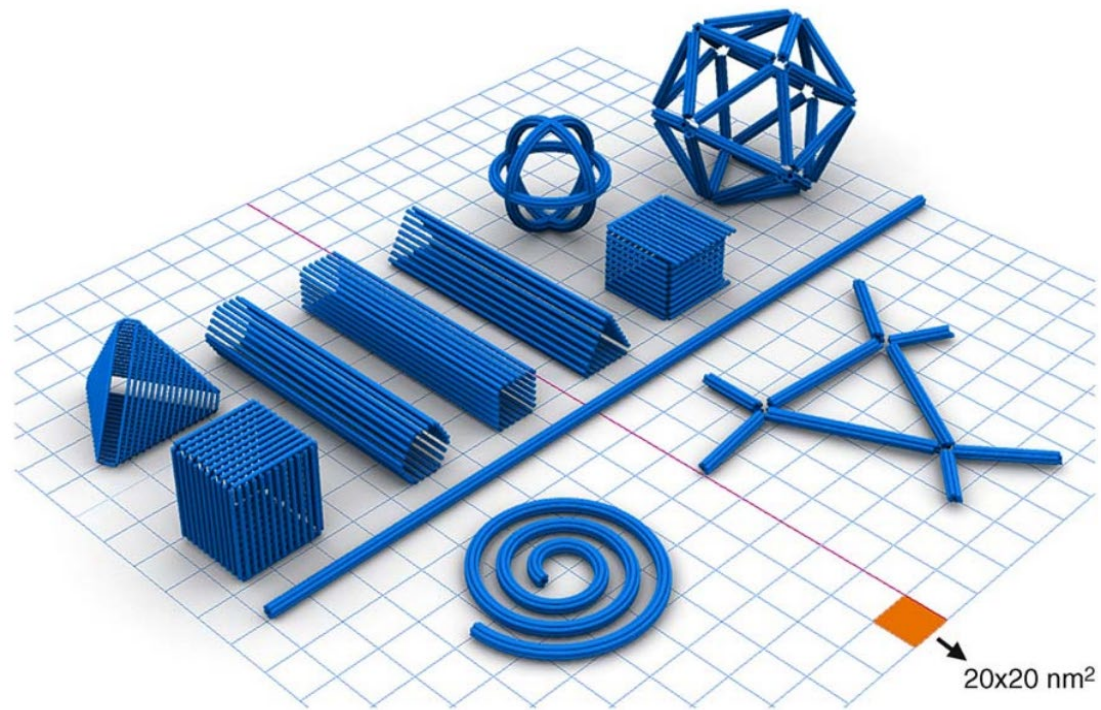
c



A DNS-ORIGAMI ÉS TÁRSAI



Current Opinion in Structural Biology

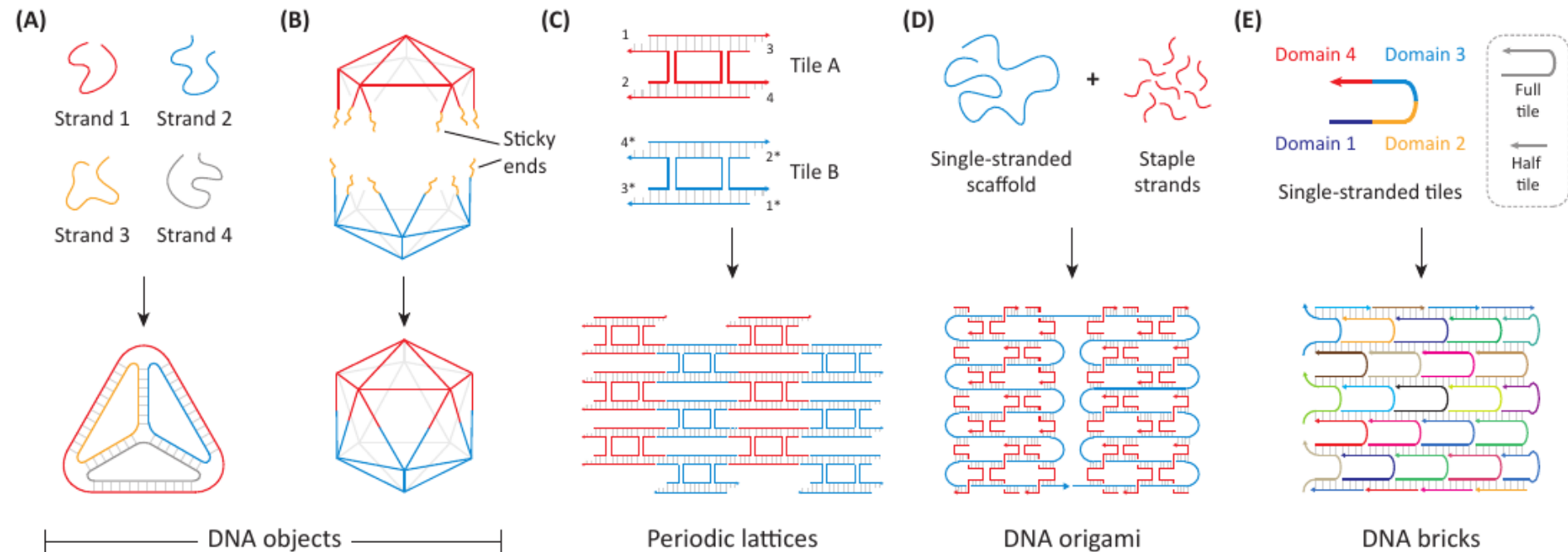


Current Opinion in Structural Biology

DNS-ALAPÚ NANOSZERKEZETEK - AZ ALAPÖTLET

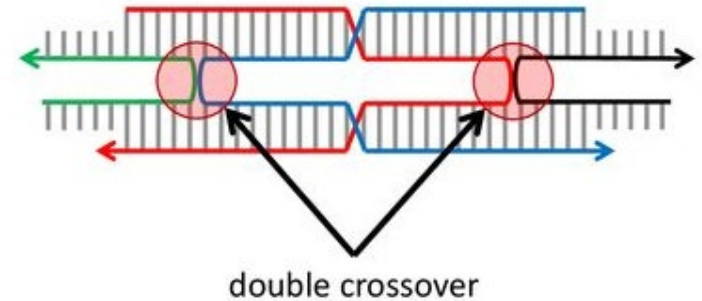
A bázispárosodás elvét használjuk ki a specifikus kapcsolatok kialakításához

A megfelelően tervezett DNS-darabok önszerveződő módon összeállnak



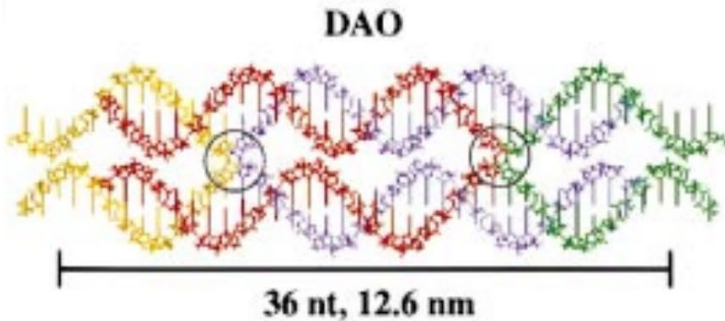
A DNS-NANOSZERKEZETEK TERVEZÉSÉNEK GYAKORLATI OLDALA

A megfelelő stabilitás érdekében érdemes két szálkeresztezéssel (double crossover) szerkezeteket használni
(v.ö.: Holliday junction a rekombináció során)

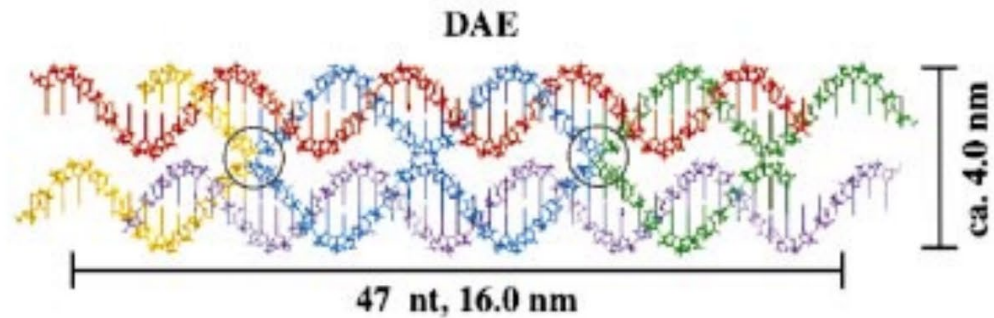


A kétszálú DNS **helikális szerkezetét** figyelembe kell venni
Az építőelemek esetében **páros vagy páratlan félfordulatos** elemeket lehet használni

3 félfordulat → 16 bázispár



4 félfordulat → 21 bázispár



A

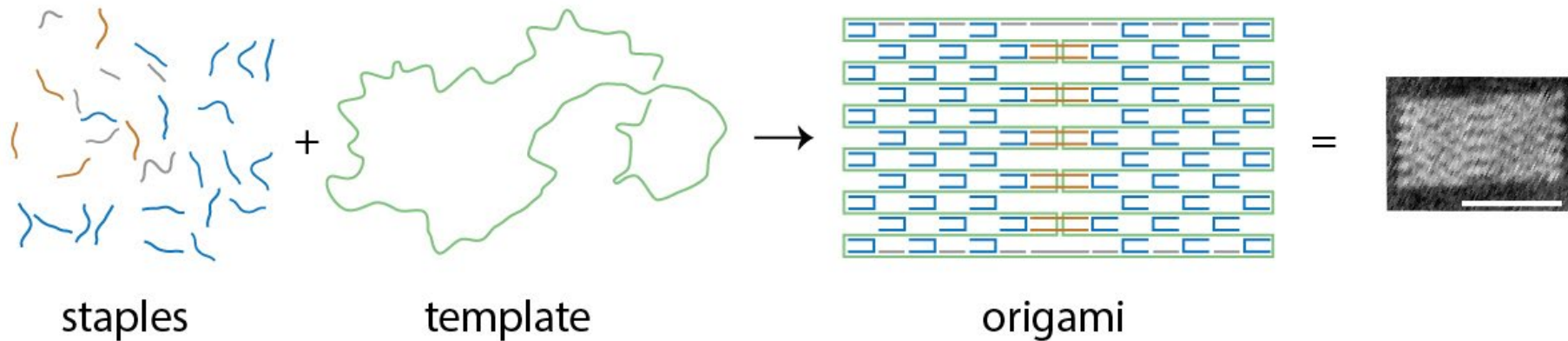


A DNS-ORIGAMI

A DNS-origami a DNS nanoszerkezetek egy speciális osztálya

Egyszálú DNS mint váz: M13mp18 bakteriofág genomja (módosított M13) ~7000 bázis

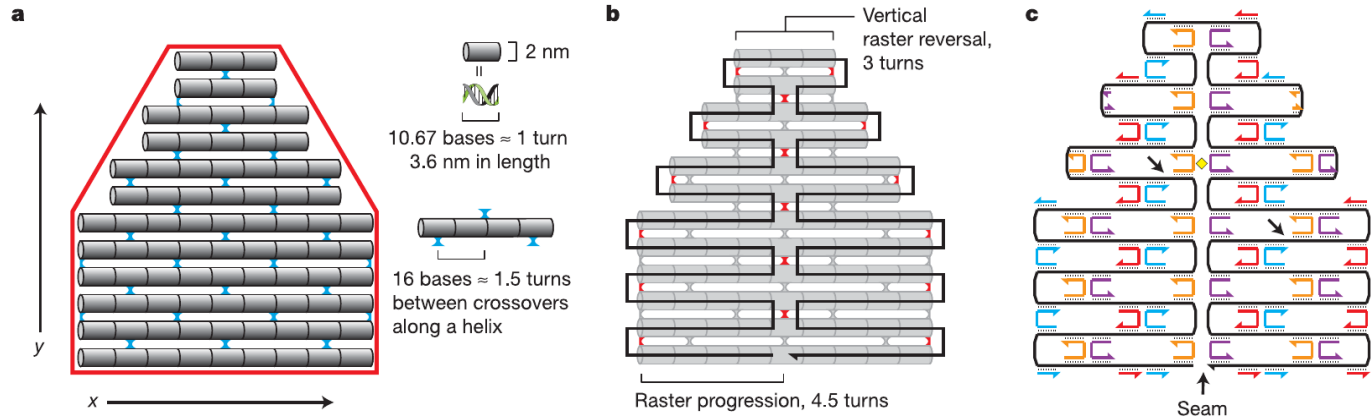
A megfelelő formára „hajtogatandó” vázat (scaffold) kapcsokkal (staples) stabilizáljuk



PÉLDA DNS ORIGAMI SZERKEZET TERVEZÉSÉRE

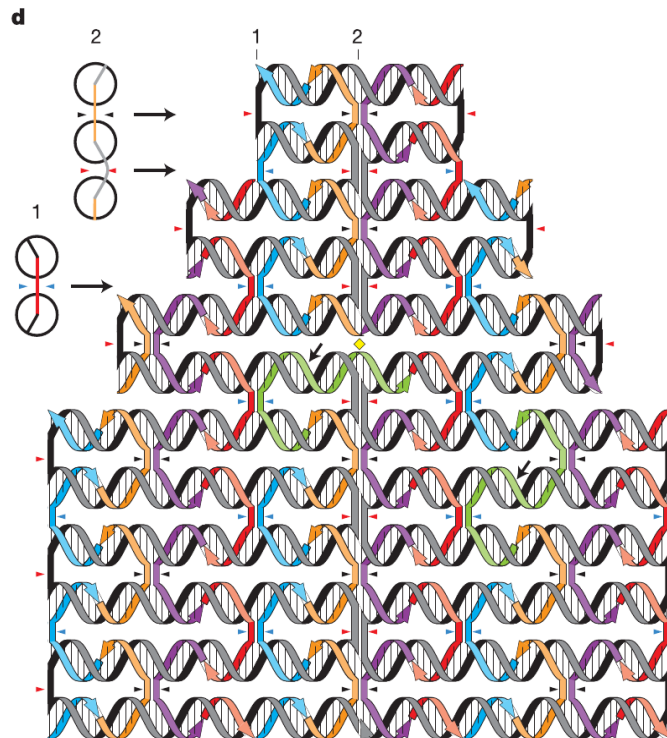
a) Forma meghatározása

b) hélixek és átkeresztezések helyének meghatározása

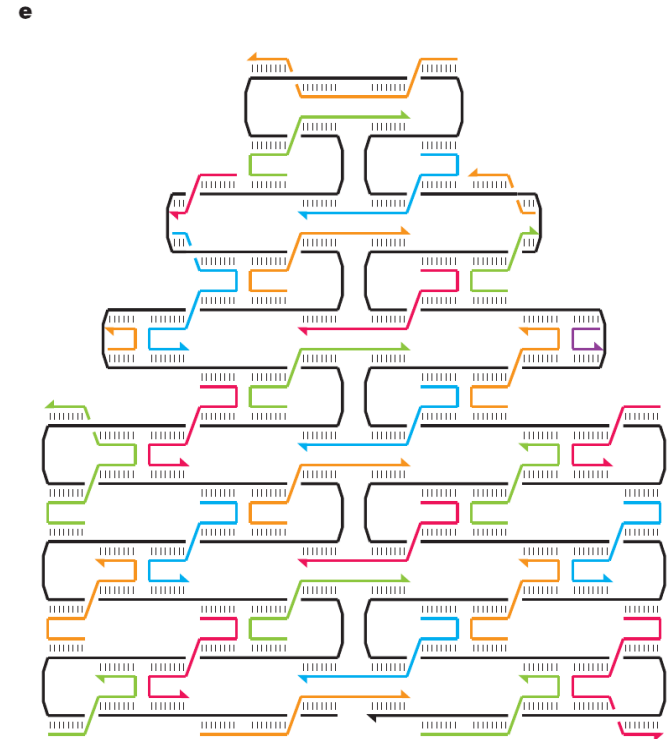


c) Első terv
16 nt hosszú
kapcsokkal

d) Az első terv
3D-ben

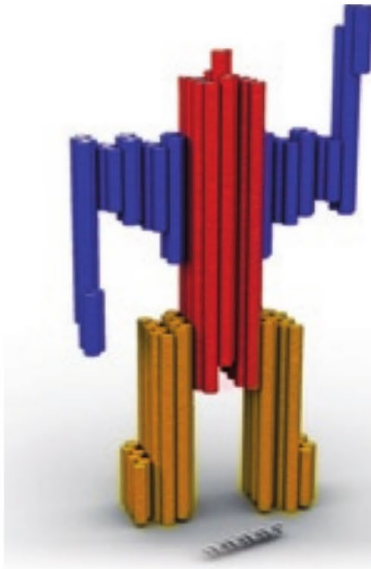


e) Végso terv
áttervezett
kapcsokkal: a
legtöbb 3 hélixet
fog át és 32 nt
hosszú

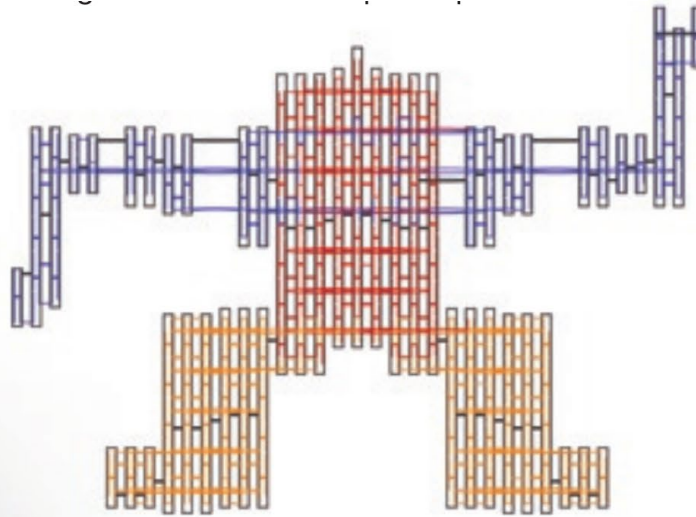


EGY BONYOLULTABB TERV – ROBOT ALAK

Forma meghatározása



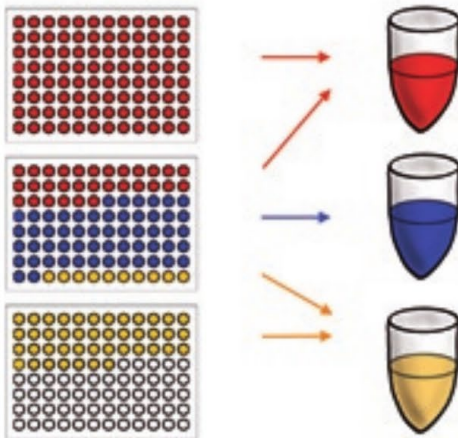
Váz + kapcsok tervezése



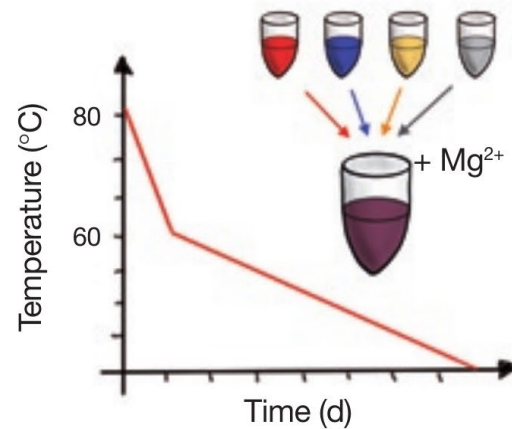
DNS szálak előállítás



DNS szálak összegyűjtése



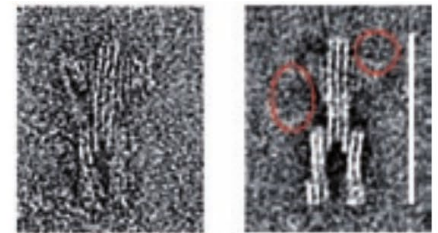
Összekeverés, önszerveződés



Tisztítás, analitika



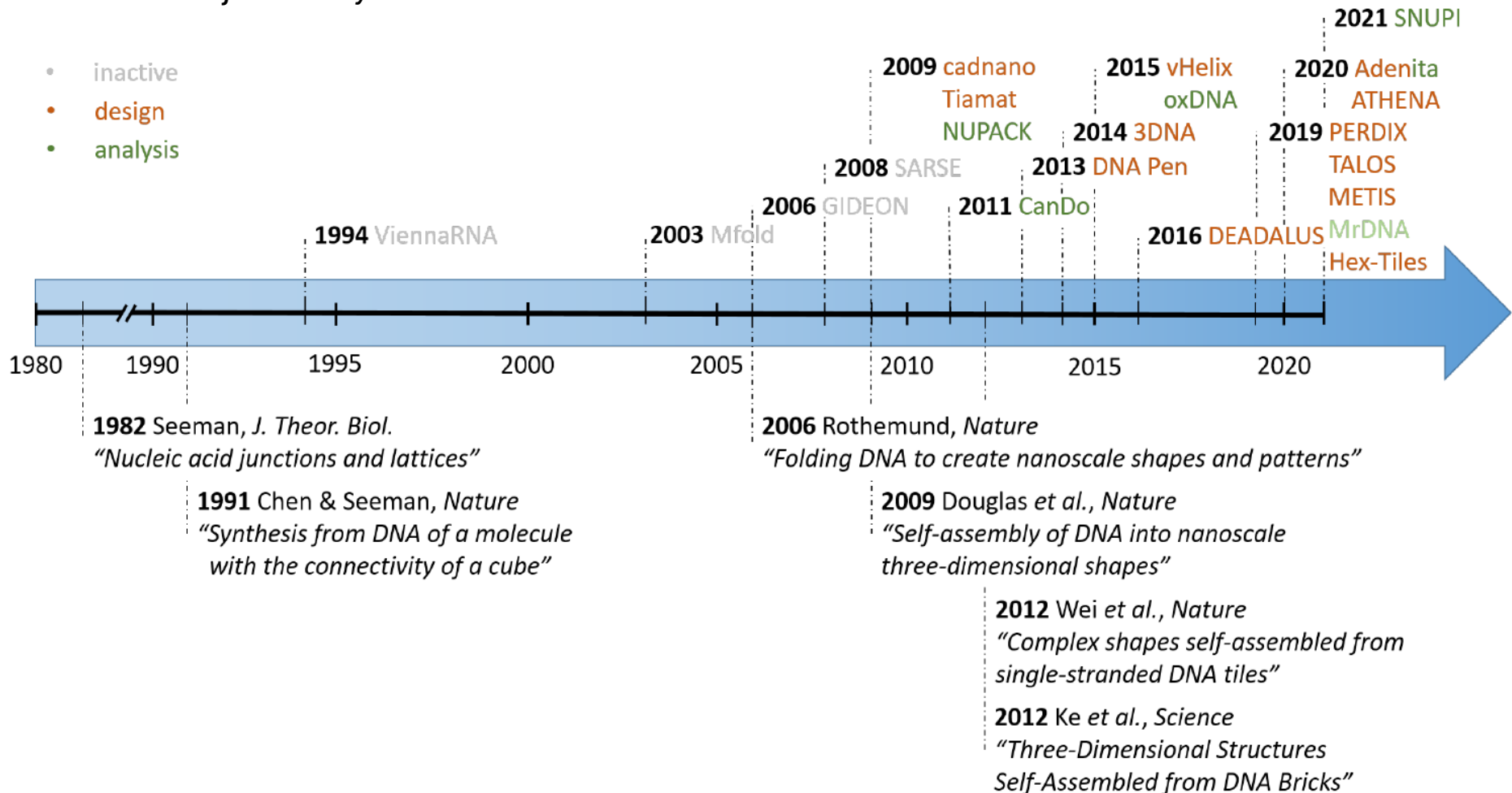
Szerkezetvizsgálat



DNS NANOSZERKEZETEK TERVEZÉSÉRE ALKALMAS PROGRAMOK

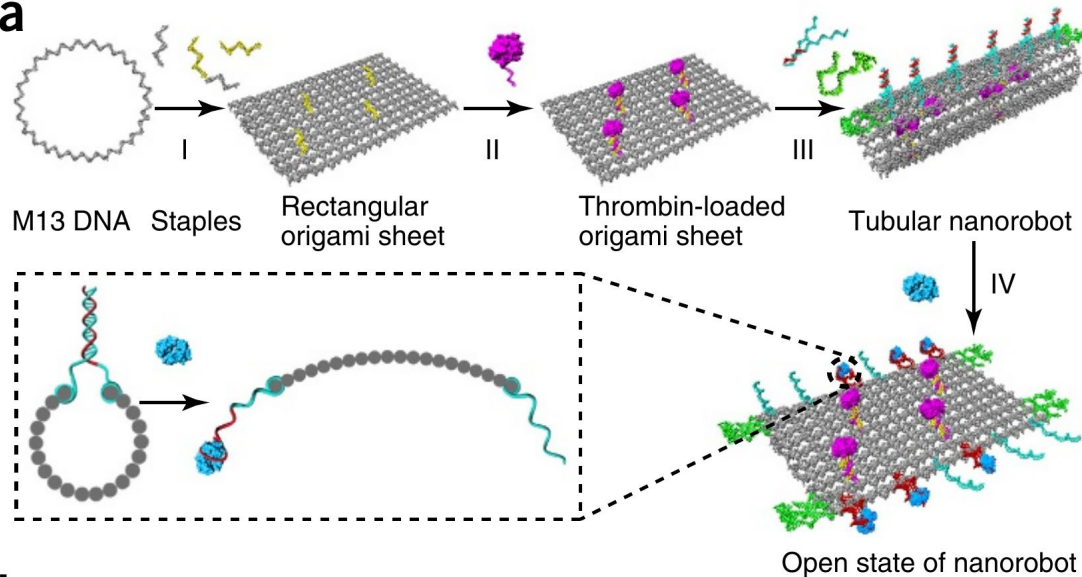
Ma már sok tervezőprogram létezik, a legújabbak már nagymértékben automatizálják a folyamatot

- inactive
- design
- analysis

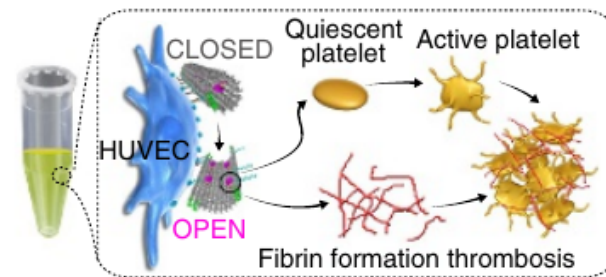
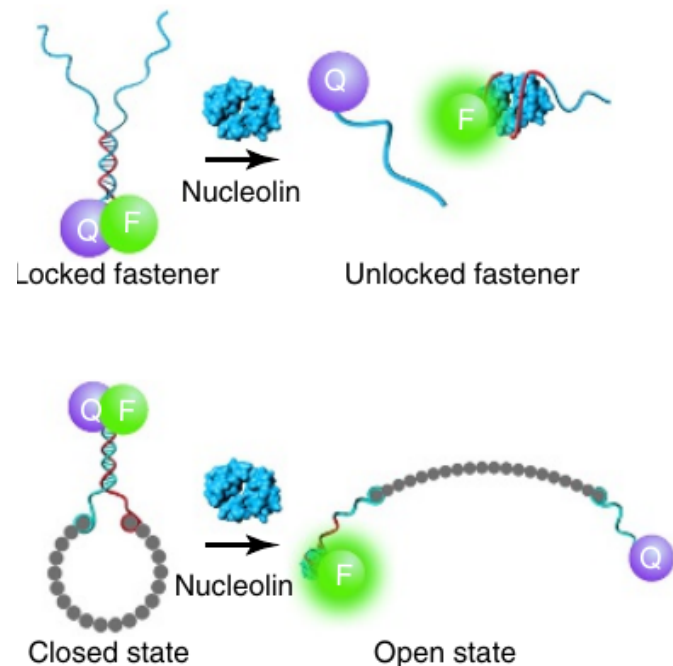
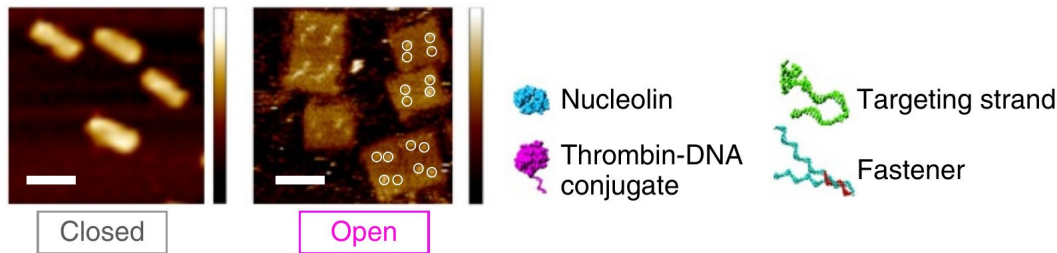


DNS-ORIGAMI ALAPÚ NANOROBOT HATÓANYAG CÉLBAJUTTATÁSÁRA

a

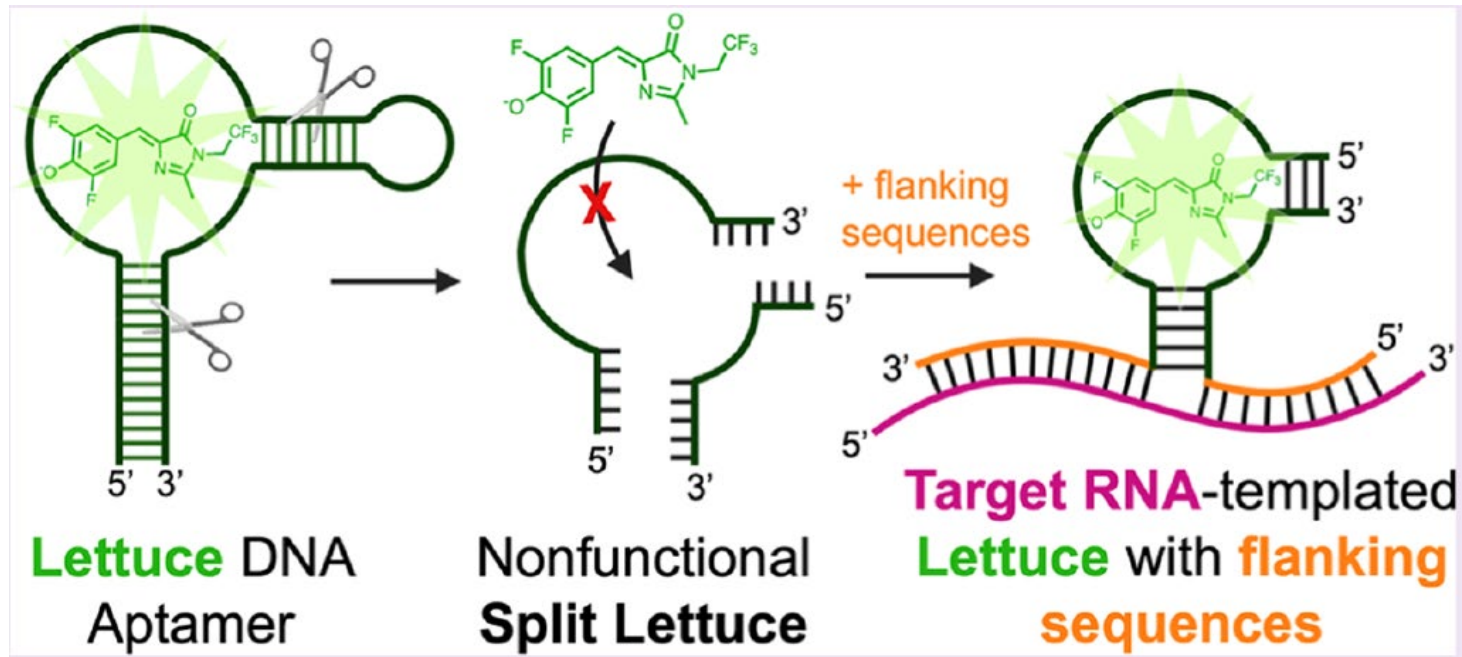


b



Egy DNS-origami alapú lemez adott “zárókapcsok” (komplementer DNS-szálak, melyeket adott fehérje-fehérje kölcsönhatás stabilizál) segítségével csővé zárul. Amikor a célsejtek felületén lévő fehérje (nucleolin) az egyik “záró” fehérjét megköti, a kapocs kinyílik és a hatóanyag (itt trombin) kiszabadul (véralvadást serkentve elzárja a tumor vérellátását)

3D DNS-SZERKEZETEN ÉS BÁZISPÁROSODÁSON ALAPULÓ NANOSZENZOR



A „saláta” becenevű DNS aptamer (speciális felismerő képességgel rendelkező rövid nukleinsav) képes egy kisméretű molekulát kötni, mely ennek hatására fluoreszcenssé válik.

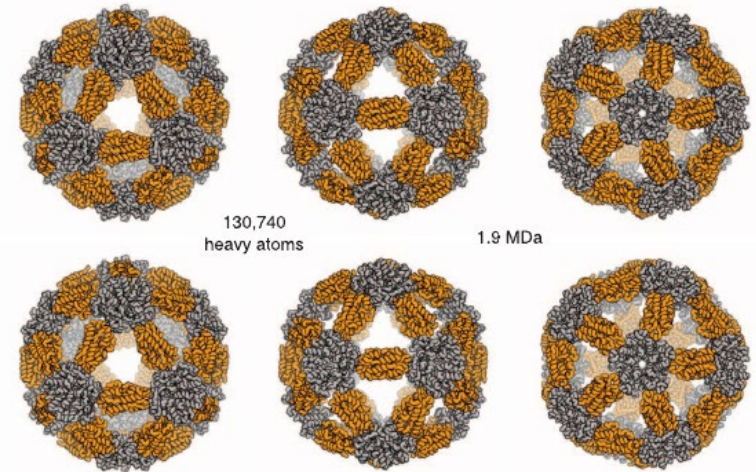
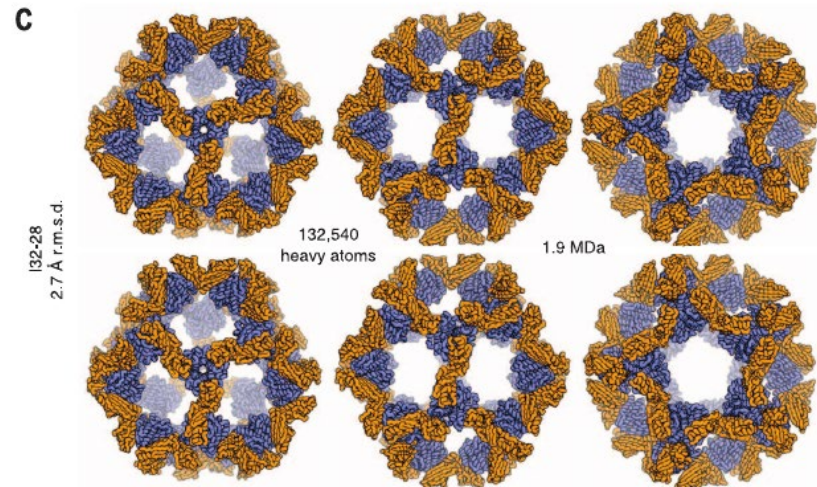
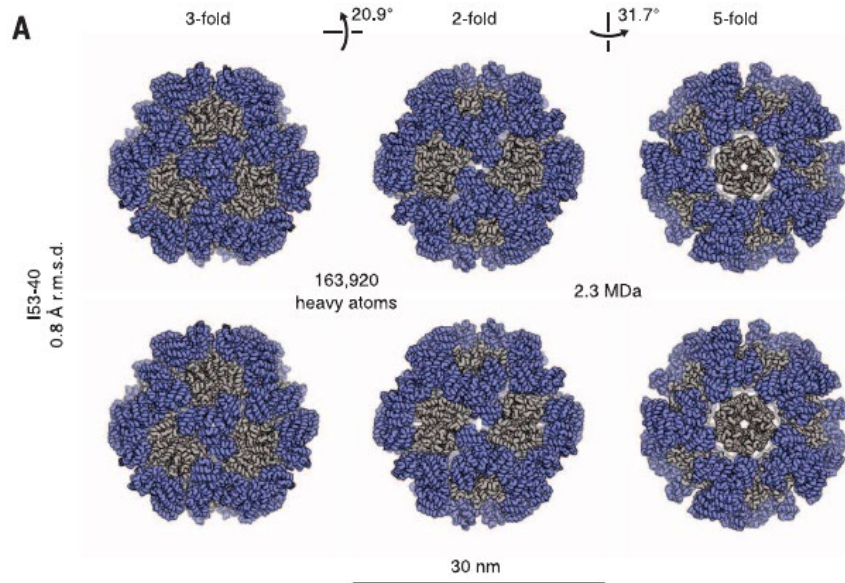
Az aptamert a megfelelő helyen elvágva készíthető olyan nanoszenzor, amely csak adott szekvenciájú partner nukleinsav (RNS) kötésekor áll össze újra és képes a szubsztrátját megkötni.

Ezáltal egy szekvenciaspecifikus és jól detektálható jelet adó szenzor jön létre

TERVEZETT, KÉTKOMPONENSŰ IKOZAÉDERES FEHÉRJEKOMPLEXEK

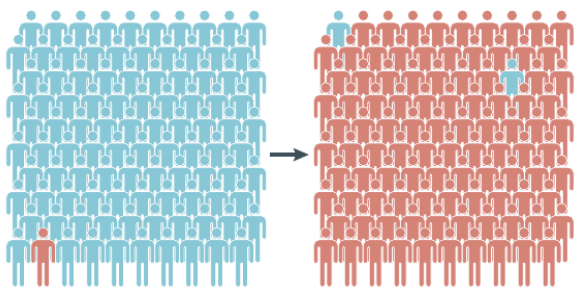


A képen David Baker látható, a
Seattle-beli University of
Washington Institute for Protein
Design intézetének vezetője



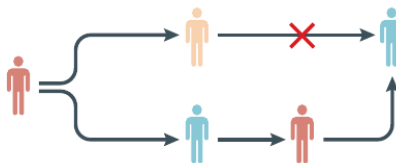
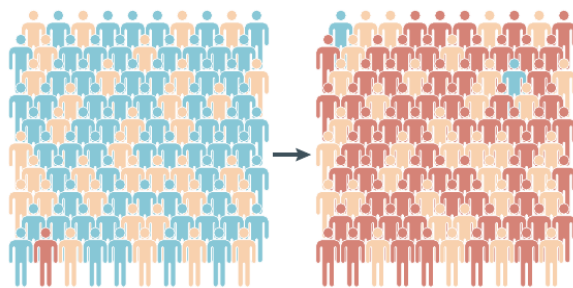
VAKCINAFEJLESZTÉS: PERSPEKTÍVÁK

No vaccination



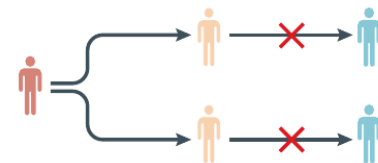
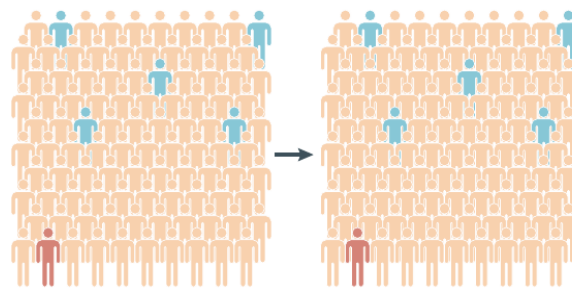
Infection passes from individuals with disease to susceptible individuals and spreads throughout the population

Vaccine coverage below threshold for herd protection



Infection can still pass to susceptible individuals and spread throughout the population except to those who are vaccinated

Vaccine coverage above threshold for herd protection



Infection cannot spread in the population and susceptible individuals are indirectly protected by vaccinated individuals



Diseased



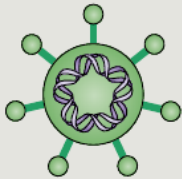
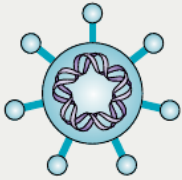
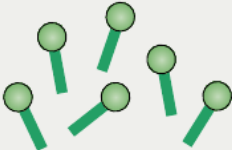
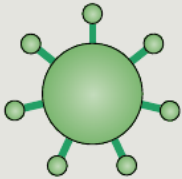
Susceptible



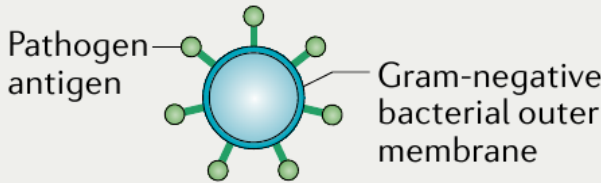
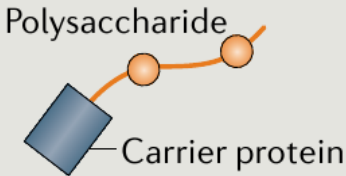
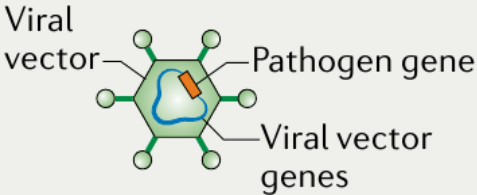
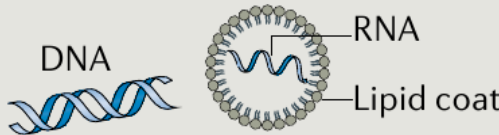
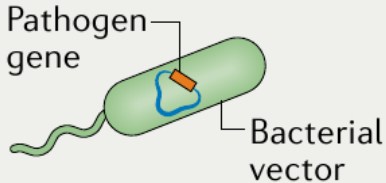
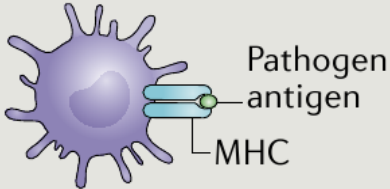
Vaccinated

A nyájimmunitás működése: adott átvettetés felett a fertőzésre érzékeny személyek vírussal való érintkezésének esélye drámaian lecsökken

VAKCINATÍPUSOK

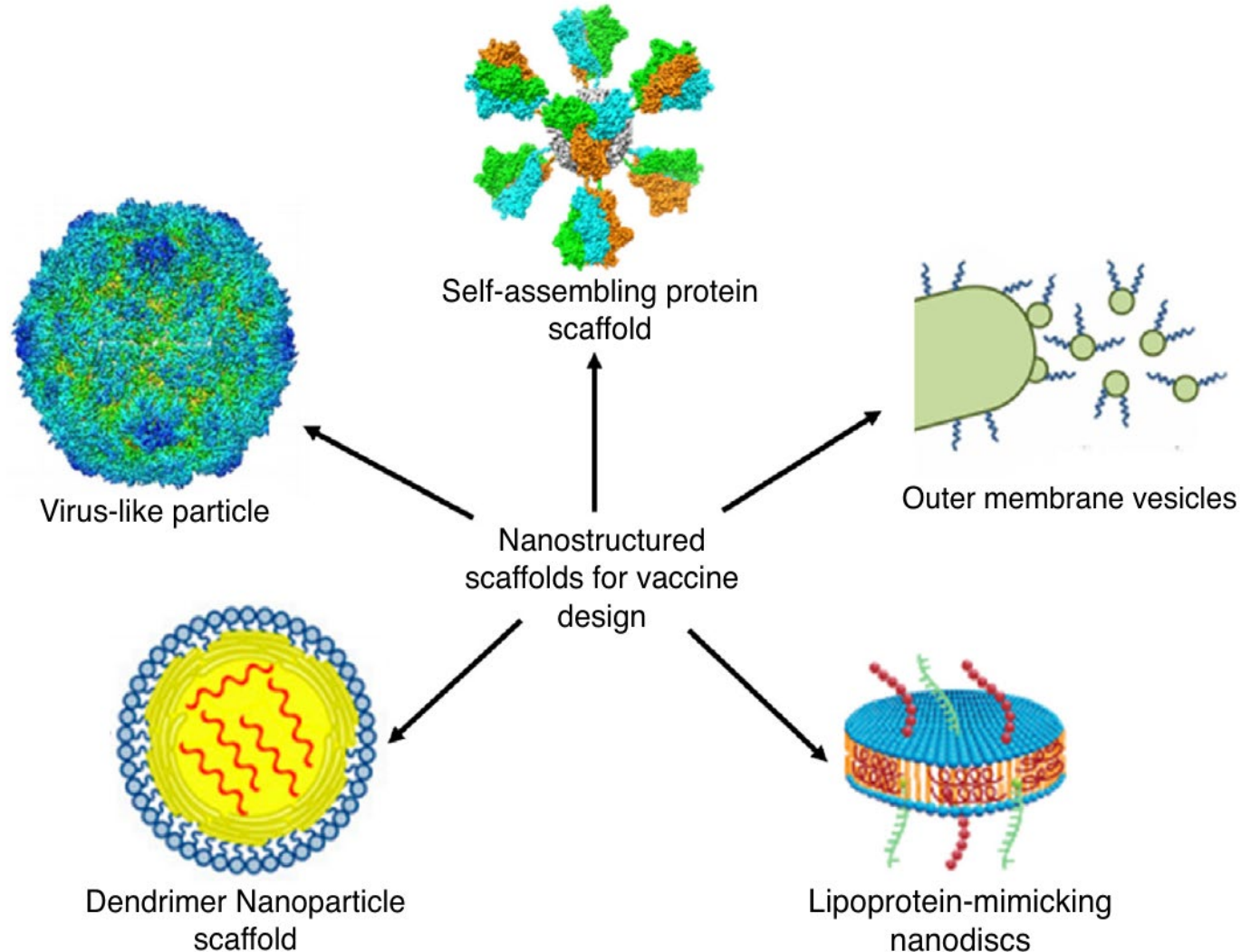
Type of vaccine		Licensed vaccines using this technology	First introduced
Live attenuated (weakened or inactivated)		Measles, mumps, rubella, yellow fever, influenza, oral polio, typhoid, Japanese encephalitis, rotavirus, BCG, varicella zoster	1798 (smallpox)
Killed whole organism		Whole-cell pertussis, polio, influenza, Japanese encephalitis, hepatitis A, rabies	1896 (typhoid)
Toxoid		Diphtheria, tetanus	1923 (diphtheria)
Subunit (purified protein, recombinant protein, polysaccharide, peptide)		Pertussis, influenza, hepatitis B, meningococcal, pneumococcal, typhoid, hepatitis A	1970 (anthrax)
Virus-like particle		Human papillomavirus	1986 (hepatitis B)

VAKCINATÍPUSOK (FOLYT.)

Outer membrane vesicle	 Pathogen antigen Gram-negative bacterial outer membrane	Group B meningococcal	1987 (group B meningococcal)
Protein-polysaccharide conjugate	 Polysaccharide Carrier protein	<i>Haemophilus influenzae</i> type B, pneumococcal, meningococcal, typhoid	1987 (<i>H. influenzae</i> type b)
Viral vectored	 Viral vector Pathogen gene Viral vector genes	Ebola	2019 (Ebola)
Nucleic acid vaccine	 DNA RNA Lipid coat	SARS-CoV-2	2020 (SARS-CoV-2)
Bacterial vectored	 Pathogen gene Bacterial vector	Experimental	–
Antigen-presenting cell	 Pathogen antigen MHC	Experimental	–

NANORÉSZECSKÉK A VAKCINAFEJLESZTÉSBEN

- Hordozóként / platformként és immunstimulátorként (adjuváns hatás) is fontosak
- Tipikusan 20-200 nm tartomány, a kisebbek általában hatásosabbak

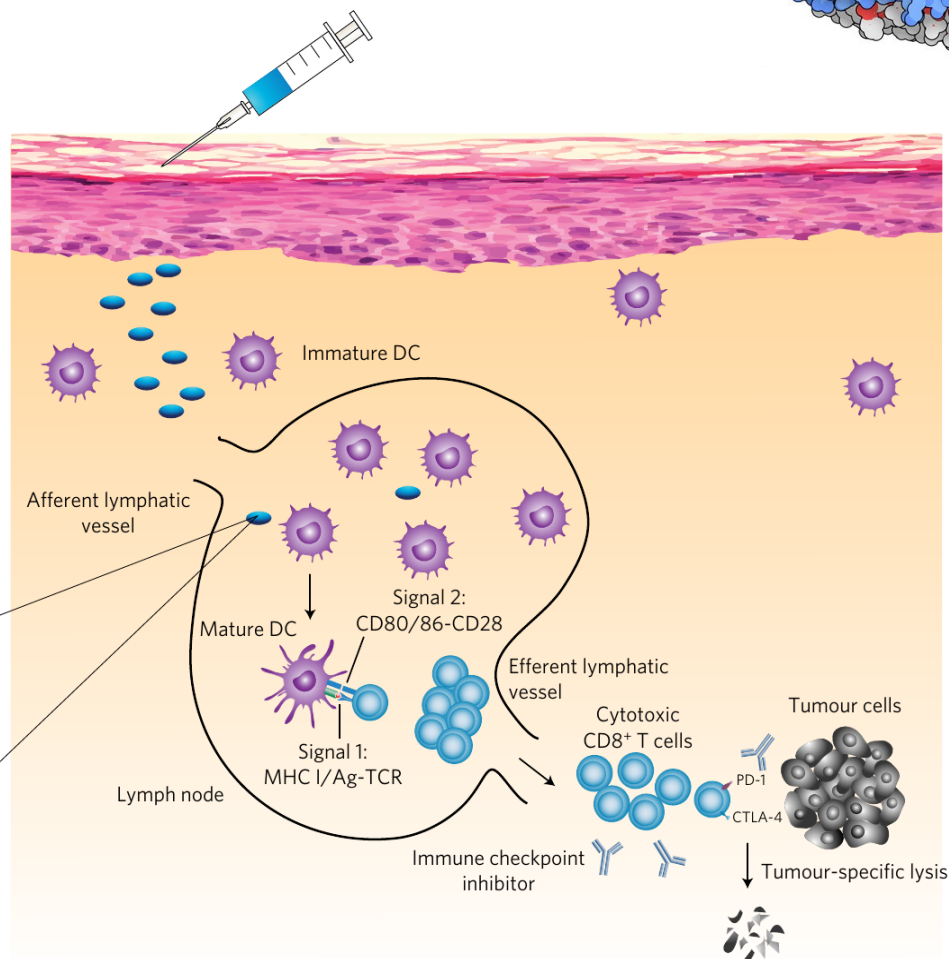
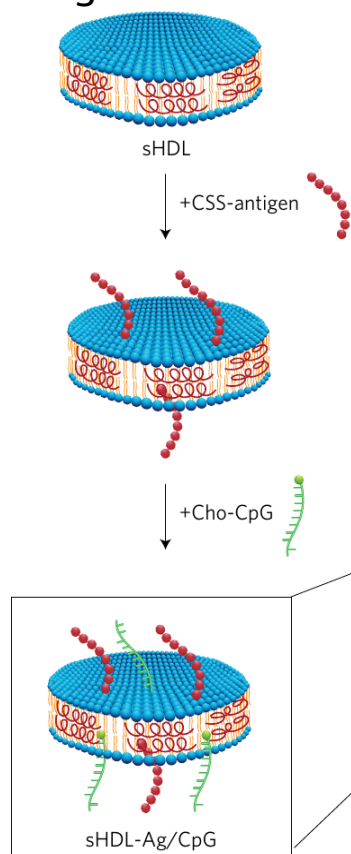
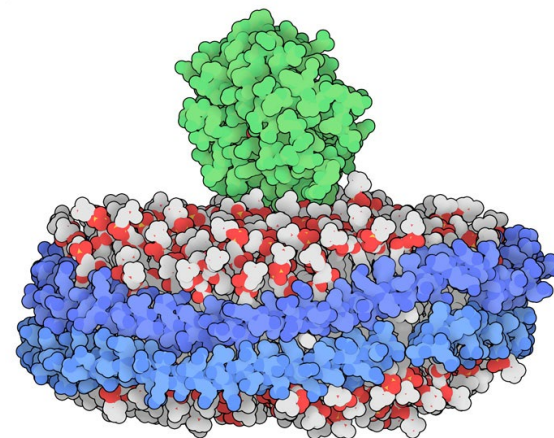


LIPID NANODISZKEK MINT VAKCINA PLATFORMOK

A nanodiszkek szerkezete a HDL-hez (high density lipoprotein) hasonló. A lipid kettősréteg apolipoprotein

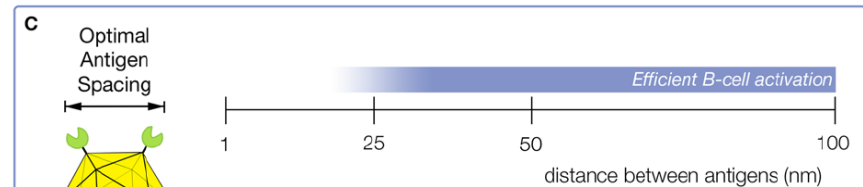
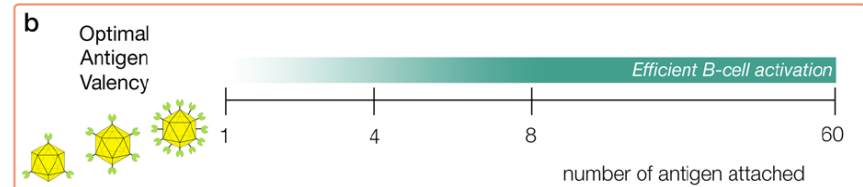
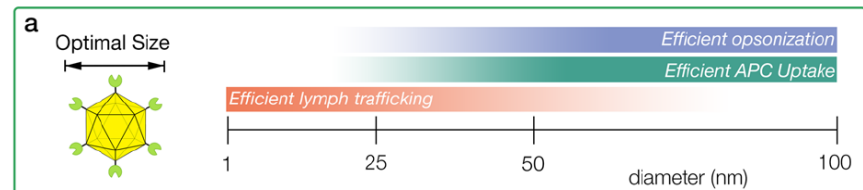
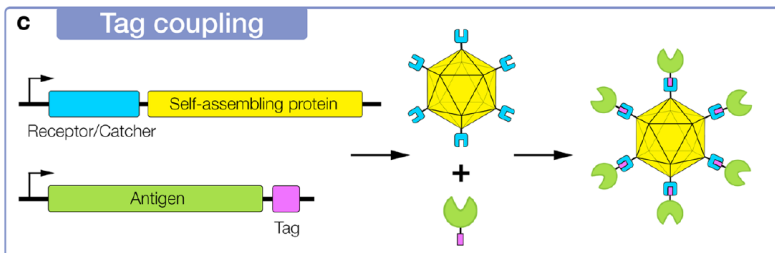
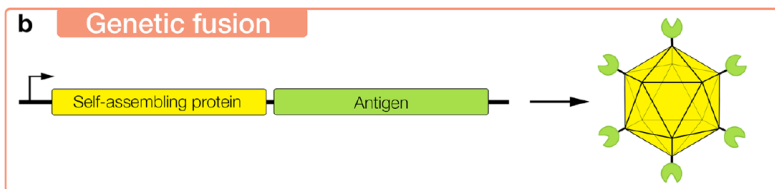
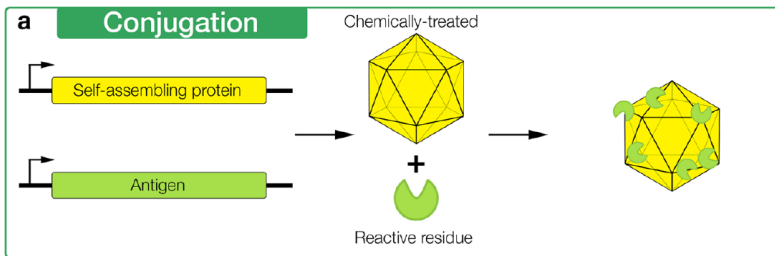
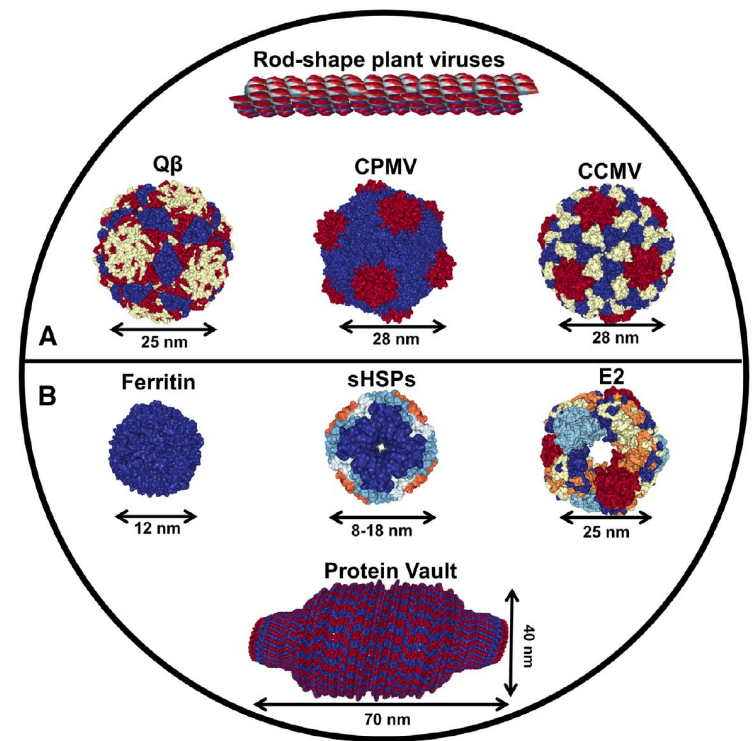
A-val van körbevéve

A lipidek funkcionálizálhatóak
és hozzájuk változatos
antigének köthetőek



FEHÉRJE NANORÉSZECSKÉK

- Vírusok kapszidfehérjei spontán összeállnak, de ilyen pl. a ferritin is
- Az antigént lehet a felszínhez kötni, de kerülhet a részecske belsejébe is
- Változtatható/választható:
 - részecskeméret
 - értékűség (hány antigén/nanorészecske)
 - antigének fizikai távolsága



PLUG-AND-DISPLAY RENDSZEREK

- Elv: általános nanorészecske, melyre könnyen rákapcsolható ~bármilyen antigén

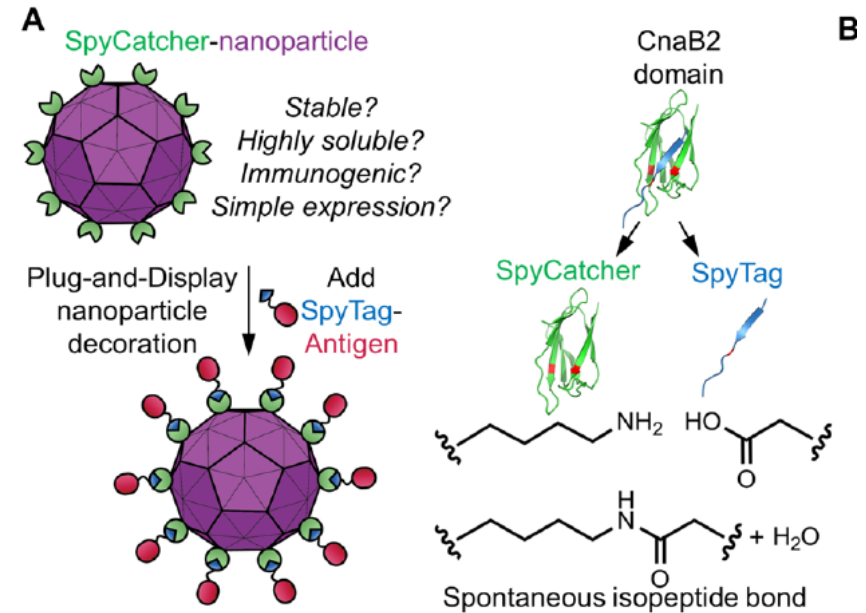
- Egy természetes (bakteriális) fehérjéből fejlesztett rendszer, az ún.

SpyCatcher/SpyTag pár lehetővé teszi az adott nanorészecskéhez a biotechnológiai úton előállított antigén kovalens kapcsolódását

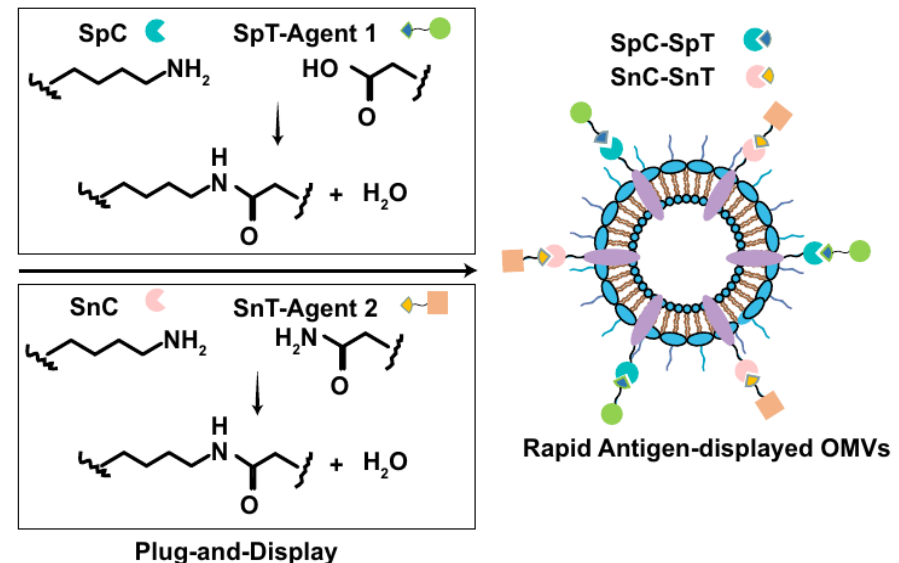
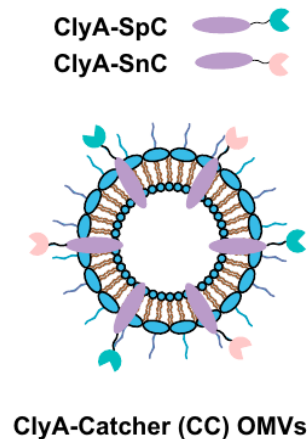
(a kettévágott fehérje két része felismeri egymást és adott Lys-Asp

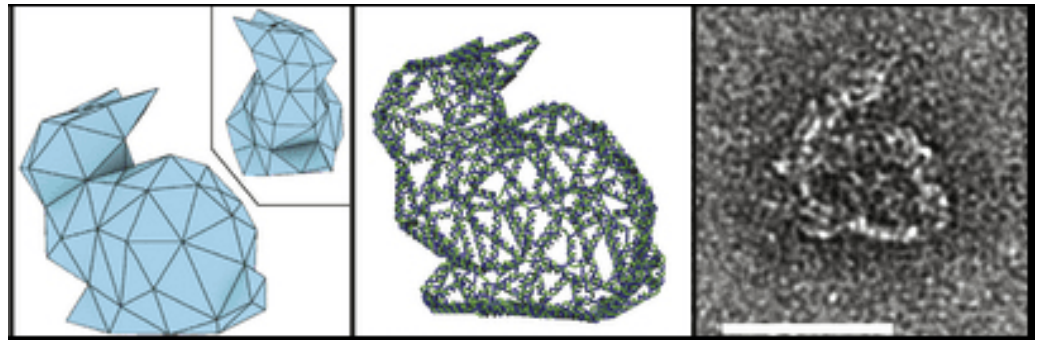
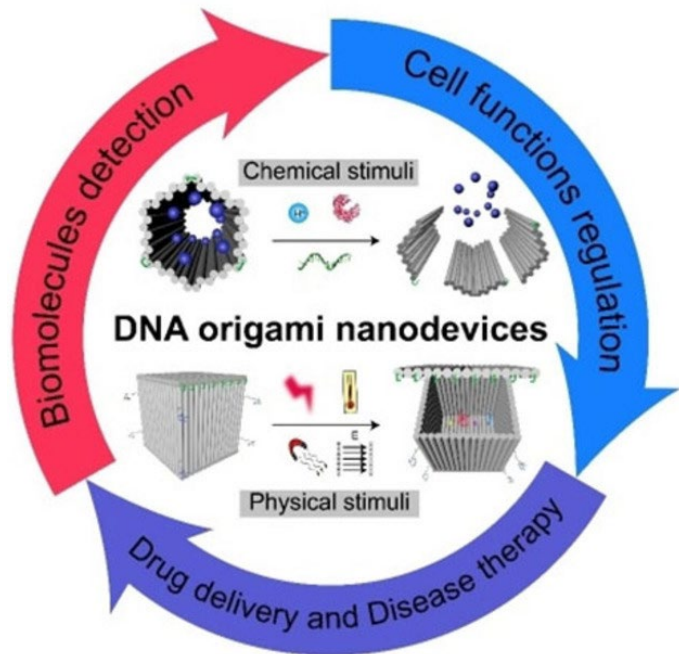
oldalláncok között spontán kialakul peptidkötés)

- többféle hasonló, egymásra ortogonális (nem keresztreagáló) rendszer ismert, így egy részecskére többféle antigén is irányítottan kapcsolható



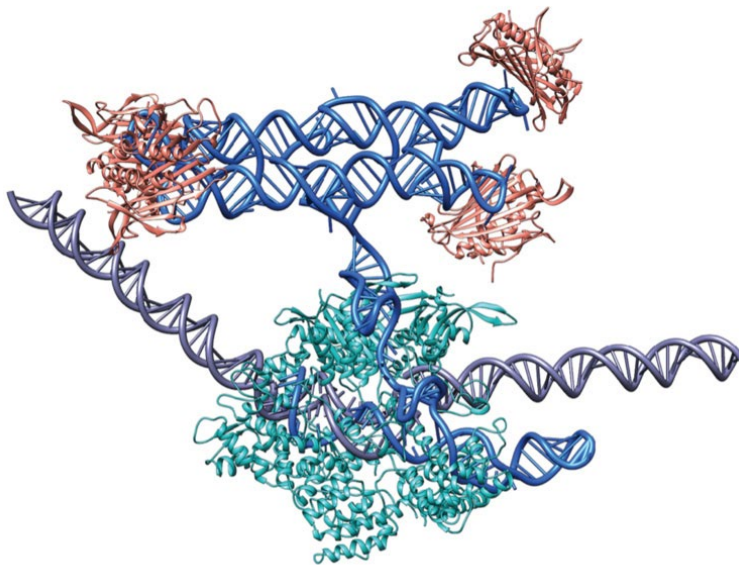
a





KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!

gaspari.zoltan@itk.ppke.hu



[3, 4]-fold DNA topology

