

Rendezetlen fehérjefragmensek NMR spektroszkópiai vizsgálata: másodlagos kémiai eltolódások és translációs diffúzió

Dudás Erika, I. évf., vegyész MSc

ELTE TTK Kémiai Intézet, Analitikai Kémiai Tanszék

Témavezető: Dr. Bodor Andrea egyetemi adjunktus
ELTE Analitikai Kémiai Tanszék

A Mitogén Aktivált Fehérjekináz (MAPK) kaszkádok evolúciósan megőrződött, sejten belüli jeltovábbító útvonalak, melyek sokféle extracelluláris ingerre adnak választ, és számos alapvető sejt folyamatot irányítanak, így pl. a sejtnövekedést, a sejtosztódást, a stresszfolyamatokat és a sejthalált. A korábban megfigyelt klasszikus, strukturális domének között megvalósuló fehérje-fehérje kölcsönhatásokkal szemben ebben a rendszerben a fehérje-peptid típusú kölcsönhatások dominálnak. Mivel a különböző MAPK családok dokkoló árkai szekvenciálisan nagymértékű hasonlóságot mutatnak, feltételezték, hogy a rendszerben megfigyelhető specifikus kötődések a szubsztrátok lineáris dokkoló motívumaihoz kapcsolódnak.

Munkánk során arra a kérdésre kerestük a választ, milyen szerkezeti okokra vezethetők vissza a MAPK rendszerben megfigyelt specifikus kötődések. NMR méréseket végeztünk öt fehérjefragmensen, melyek az NFAT transzkripció faktor kivételével mind lineáris dokkoló motívumokból származtak. 2D spektrumok felvétele és az asszignáció elvégzése után a másodlagos kémiai eltolódások szekvencia szerinti alakulásából következtettünk a fragmensek szerkezeti jellemzőire. Két esetben (NFAT, MNK1) teljes rendezetlenséget állapítottunk meg, három fehérjefragmens (MK2, RSK1, RSK1_S/A) különböző hosszúságú régiójában viszont naszcens helikalitást tapasztaltunk. A MAPK rendszer kötődésviszonyainak ismeretében és az eredményeink alapján arra következtettünk, hogy a specifikus kötődés a naszcens szerkezetkialakító hajlammal rendelkező régiókhoz kapcsolódik, ezek hiánya pedig a promiszkuus kötődést eredményezi. Az NMR mérésekből nyerhető atomi szintű információk felhasználásával tehát kapcsolatot tudtunk teremteni a fehérjefragmensek szerkezete és biológiai funkciói között.

A méréseket denaturáló közegben is megismételtük, és megfigyeltük, hogy a naszcens másodlagos szerkezetkialakító hajlamú régiók megőrzik ezt a tulajdonságukat, illetve azt, hogy csak a pH változtatásával nem érhető el a teljes rendezetlenség. Diffúziós méréseink alapján összehasonlítottuk közel azonos molekulatömegű rendezett minifehérjék és a vizsgált rendezetlen fragmensek hidrodinamikai sugarát, melyek közül várakozásainknak megfelelően utóbbiak bizonyultak nagyobbak.

Eredményeink remélhetőleg hozzájárulnak majd a MAPK jelátviteli rendszer működésének jobb megértéséhez, és ezáltal a különböző fontos sejt folyamatok szabályzásával kapcsolatos ismereteink kibővítéséhez.