

Egy rendezetlen miozin fragmens, a homodimer S100A4 fehérje, illetve az egymással alkotott „átkaroló” komplex NMR-spektroszkópai jellemzése

Az S100A4 egy kalciumkötő homodimer fehérje, az S100 fehérjék családjából. A nemizom-miozin IIA-val alkotott intracelluláris komplexe feltételezhetően kulcsszerepet játszik a tumor metasztázis kialakulásában. Munkánk során ezt a komplexet vizsgáltuk NMR-rel. A nemizom-miozin IIA egy 45 aminosavból felépülő fragmenséről (MIIA), majd a szabad állapotú S100A4-molekuláról, végül a jelölt S100A4 jelöletlen MIIA-val alkotott komplexéről vettünk fel 2D és 3D heteronukleáris NMR-spektrumokat, amelyeket asszignáltam. Az MIIA-fragmens teljes asszignációjából, a másodlagos kémiai eltolódás értékek elemzéséből, valamint a 2D ^1H - ^{15}N HSQC spektrum hőmérséklet-függésének vizsgálatából egyértelműen bizonyítható, hogy ez a 45 aminosavból felépülő fragmens rendezetlen térszerkezetű. Az SCS értékek elemzése rámutatott, hogy a fragmens középső (az A11-L25 aminosavak közötti) régiójában inherens helicitás, azaz dinamikusan fel- és leépülő α -hélix szerkezet mutatható ki, ami előremutat az MIIA komplexben felvett térszerkezetére. Ez a jelenség újdonság a rendezetlen szerkezetű fehérjék körében, amely csak NMR-rel vizsgálható. Az SCS értékek kiszámításához használatos többféle random coil értékek összevetését is elvégeztük. Az S100A4 asszignációjával kapott eltolódás értékek és az SCS értékek elemzéséből kimutatható, hogy ez egy rendezett térszerkezetű molekula, s az irodalomból ismert térszerkezetében szereplő négy α -hélix is kimutatható. Az S100A4 MIIA-fragmensével alkotott komplexe szokatlan módon aszimmetrikus komplex, tehát az S100A4-homodimer két lánc egy molekula MIIA-val alkot komplexet. Emiatt a két lánc eltérő kémiai környezetbe kerül, és ezt az NMR egyértelműen kimutatja: a 2D ^1H - ^{15}N HSQC spektrumon megkettőződnek a jelek. Ezen jeleket is asszignáltam munkám során. A komplexkötődés helyét is kimutattam az eltolódás értékek megváltozásainak elemzéséből. Az asszignációk alapján el tudjuk kezdeni a dinamika vizsgálatát, ami a komplex képződéséről és szerkezetéről újabb információkat fog szolgáltatni.