

Streszczenie:

Kluczowe znaczenie w zrozumieniu mechanizmu fałdowania się białek mają badania doświadczalne i teoretyczne nad peptydami i małymi modelowymi białkami. Jednym ze sposobów poznania ww. mechanizmu jest projektowanie i badanie sekwencji aminokwasowych nieobserwowanych w przyrodzie, posiadających zdolność szybkiej i spontanicznej samoorganizacji w unikatową trójwymiarową strukturę bez tendencji do oligomeryzacji. W niniejszej pracy podjęto próbę charakterystyki konformacyjnej mini-białka TRP-CAGE oraz jego trzech wariantów. Przeprowadzono analizę struktury przestrzennej oraz dynamiki konformacyjnej tych mini-białek przy pomocy spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR). Eksperymenty wykonano w szerokim zakresie temperatur: 278 – 313 K (ze szczególnym uwzględnieniem temperatur mięknięcia badanych układów), a następnie przeprowadzono symulację dynamiki molekularnej (MD). Wyniki wykonanych badań pozwoliły w pełni scharakteryzować stany konformacyjne wybranych peptydów w różnych temperaturach oraz dla jednej z analizowanych sekwencji przeprowadzić pełną charakterystykę zarówno stanu sfałdowanego jak i niesfałdowanego (o którym wiedza jest wciąż bardzo ograniczona). Z badań wynika, że w niskich temperaturach dominują zespoły struktur bardzo zwartych (tzw. natywnych) charakteryzujących się dużą ilością kontaktów dalekozasięgowych, a wzrost temperatury powoduje spadek ilości tych oddziaływań, co prowadzi do większej dynamiki konformacyjnej układu i mniejszego jego ustrukturyzowania. Należy podkreślić, że nawet w wysokich temperaturach (powyżej temperatury mięknięcia) oddziaływania, które były obecne w niskich temperaturach, nadal istnieją. Analizowane mini-białka wydają się więc być przykładem fałdowania wg modelu downhill, gdyż w procesie zwijania/rozwijania się białka w temperaturze jego mięknięcia zespół konformacji łańcucha polipeptydowego nie jest mieszaniną całkowicie zwiniętych i całkowicie rozwiniętych konformacji (jak zakłada przyjęty wcześniej dla tych peptydów model dwustanowy), a raczej jednolitymi zestawami konformacji zawierającymi cechy struktury związane ze stanem natywnym białka. Ponadto eksperymenty przeprowadzone w tej pracy wykazały, że problem interpretacji danych dotyczących stabilności termodynamicznej punktowych mutantów jest bardziej złożony niż dotychczas sądzono. Dotąd wpływ punktowych mutacji rozpatrywany był jedynie w kontekście zmian łańcuchów bocznych reszt aminokwasowych i ich ekspozycji do rozpuszczalnika lub tworzenia się wiązań wodorowych. Przedstawione wyniki badań wskazują, że nie tylko rodzaj reszty aminokwasowej jest istotny, ale także jej miejsce i kolejność w sekwencji aminokwasowej, ponieważ niektóre kombinacje reszt aminokwasowych mogą prowadzić do znacznych różnic w lokalnej giętkości/sztywności łańcucha polipeptydowego.