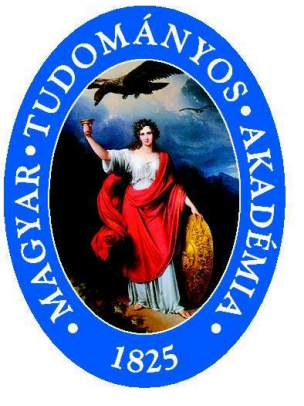


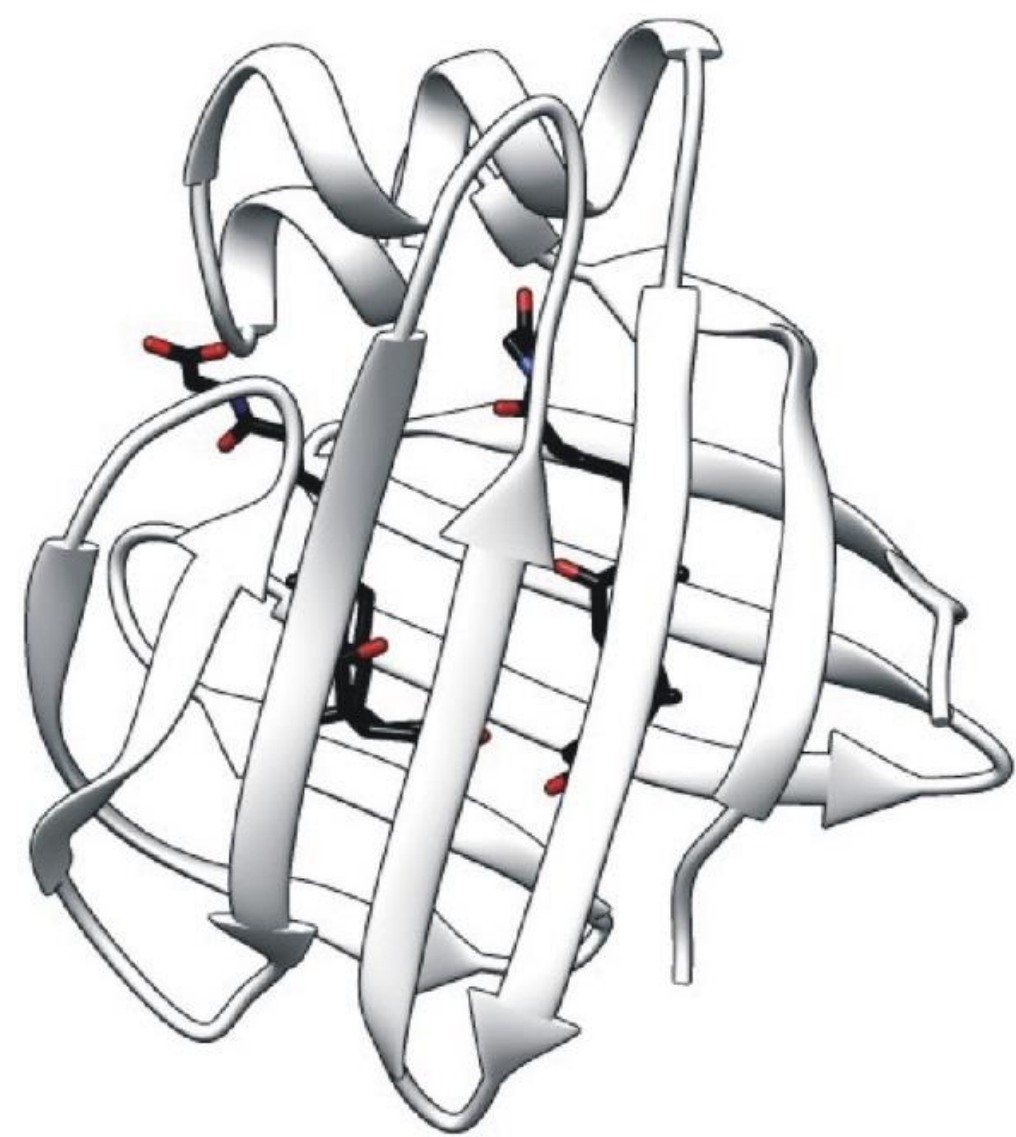
# Hő- és kémiai denaturáció a humán epesav-kötő fehérjében



Tőke Orsolya<sup>a\*</sup>, Biczók László<sup>b</sup>, Kovács Mihály<sup>c</sup>



<sup>a</sup>MTA TTK Szerves Kémiai Intézet, <sup>b</sup>MTA TTK Anyag és Környezetkémiai Intézet, <sup>c</sup>ELTE TTK Biokémia Tanszék



Együttműködésünk középpontjában az intracelluláris lipidkötő fehérjék (iLBP) családjába tartozó, anyagcsere-rendellenességekkel és daganatos megbetegedésekkel összefüggésbe hozható humán epesav-kötő fehérje (hI-BABP) működési mechanizmusának vizsgálata áll. Más iLBP fehérjékhez hasonlóan, a BABP-fehérjék molekuláris kölcsönhatásaiban (epesavak intracelluláris transzportja, nukleáris transzlokáció és a farnesoid X receptor transzkripciós aktivitásának stimulációja) fontos szerep jut a fehérjében zajló lokális letekeredési folyamatoknak. Vizsgálataink célja szerkezeti biológiai (NMR) és biofizikai módszerek segítségével a le- és feltekeredés mechanizmusának megértése a BABP fehérjékben.

**TERMODINAMIKA**  
ITC, fluoreszcencia

Biczók László, D.Sc.  
MTA TTK AKI

- molekulaszerkezet és mikrokörnyezet hatása a kötődés termodinamikájára és kinetikájára többkomponensű kémiai/biológiai rendszerekben
- izokinolin és indol vázzal rendelkező alkaloidok kötődése

**SZERKEZET, DINAMIKA**  
NMR

Tőke Orsolya, Ph.D.  
MTA TTK SZKI

- fehérje-ligandum, fehérje/peptid-membrán kölcsönhatások
- lipidkötő fehérjék
- belső molekuláris mozgások NMR spektroszkópiái és biofizikai vizsgálata

**KINETIKA**  
stopped-flow fluoreszcencia

Kovács Mihály,  
Ph.D., habil. D.Sc.,  
ELTE TTK

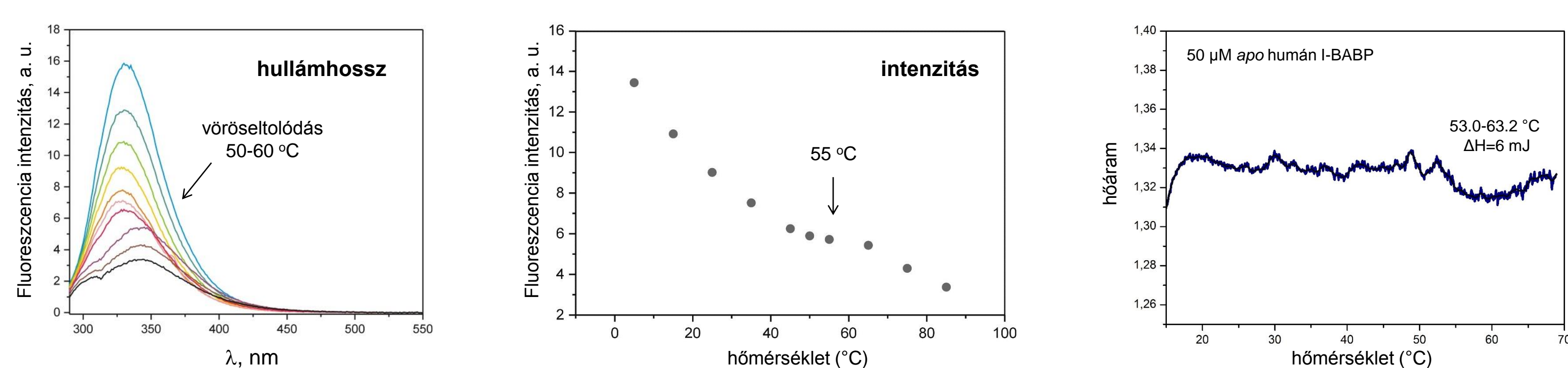
- DNS-hibajavításban központi szerepet játszó DNS-helikáz fehérjék működési mechanizmusának és biológiai szerepének felderítése
- gyorskeveréses kinetikai módszerek

## DENATURÁCIÓ

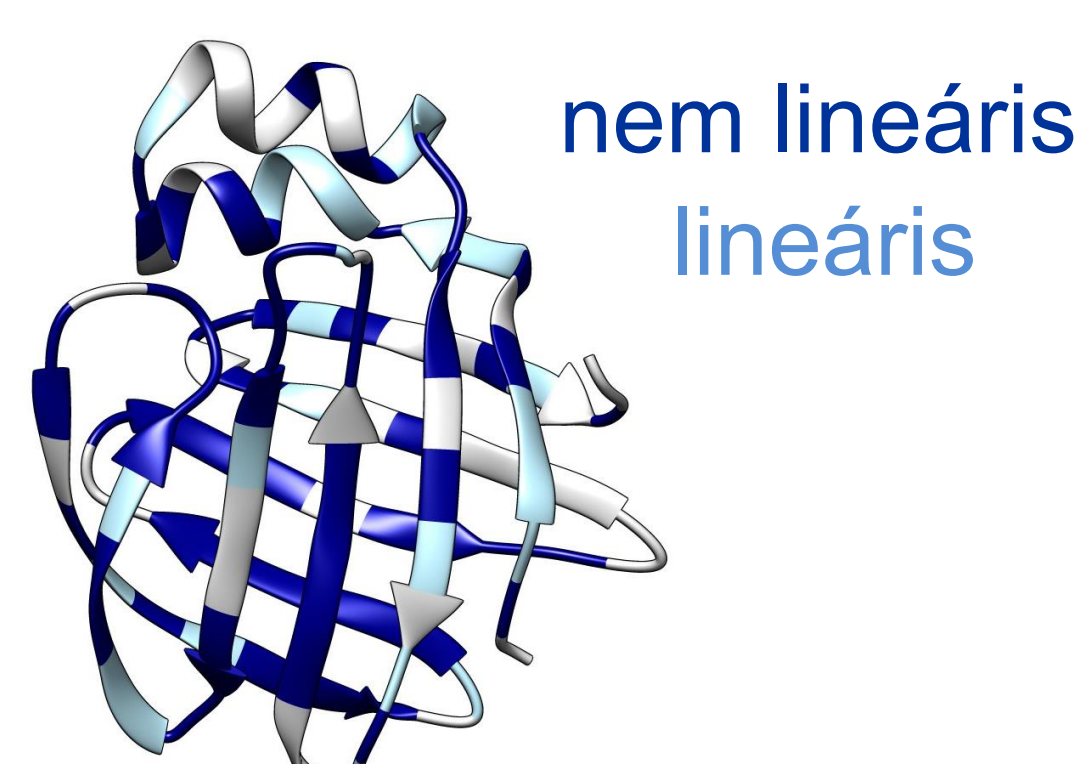
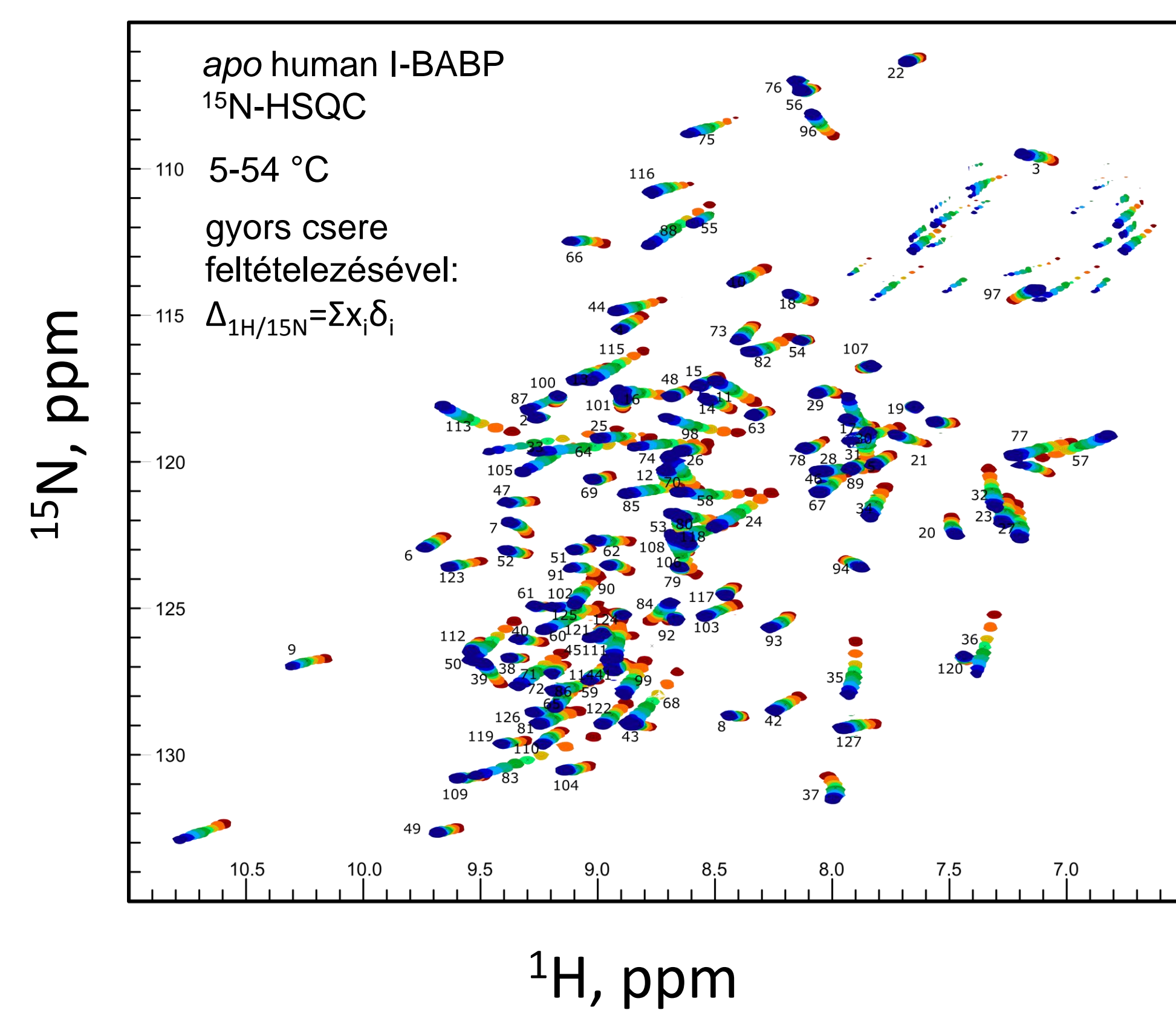
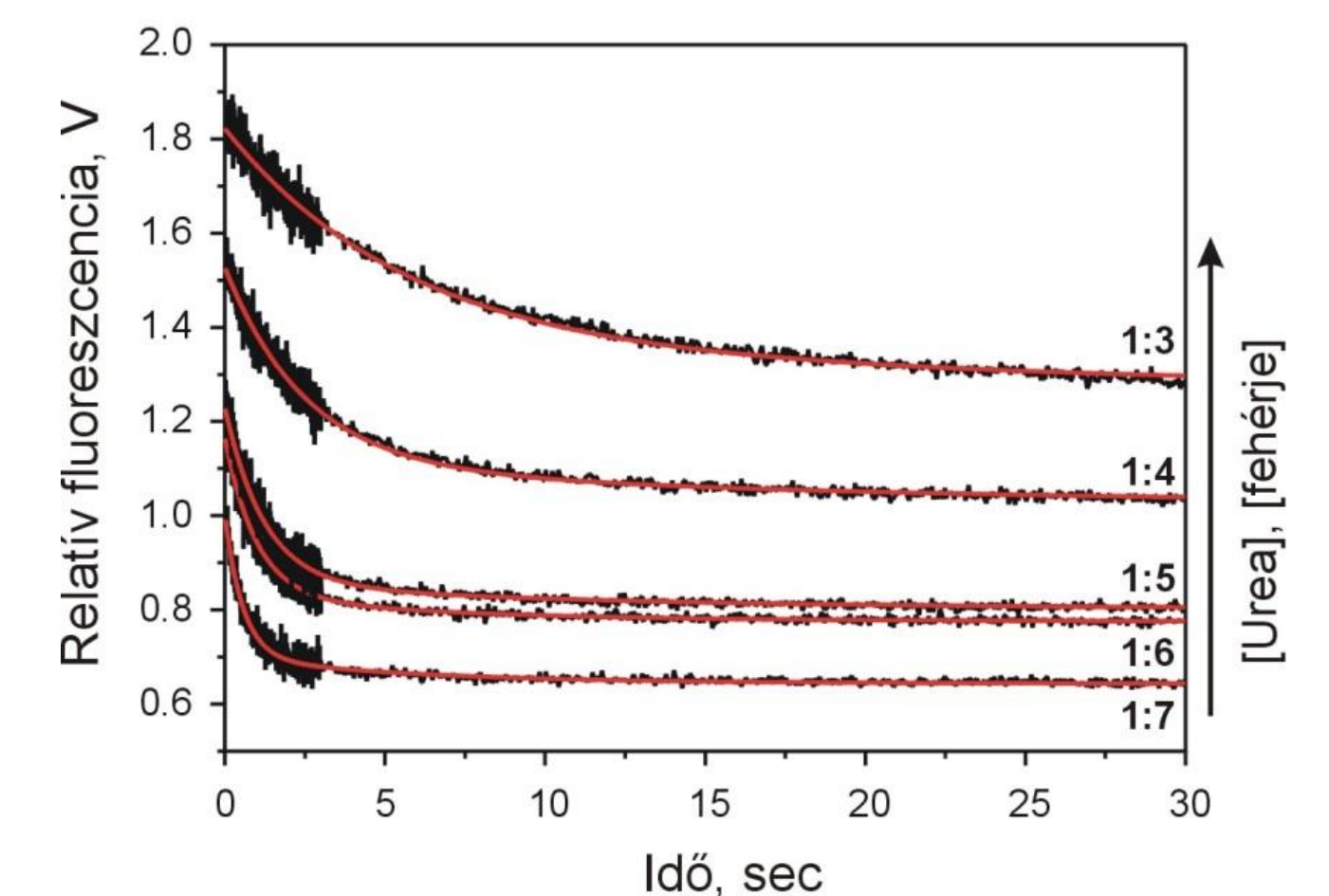
fluoreszcenciás, DSC és NMR spektroszkópiái vizsgálata

## RENATURÁCIÓ

stopped-flow fluoreszcenciás vizsgálata

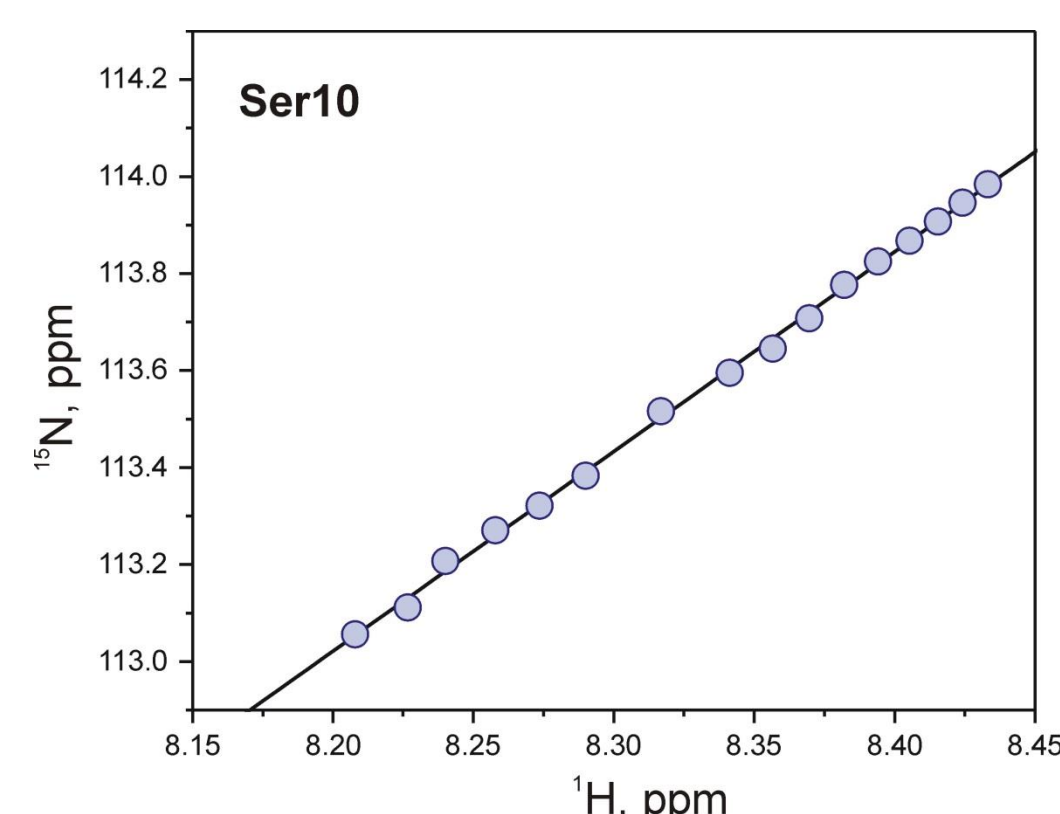
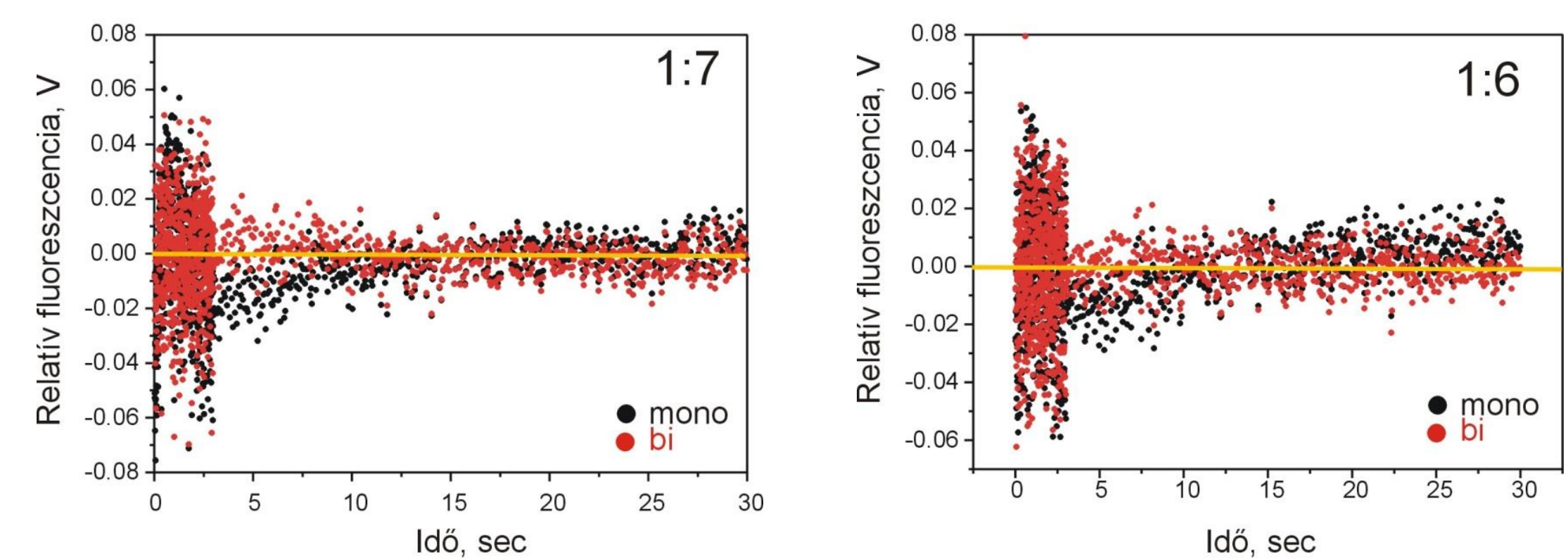


Denaturált (7 M urea) apo humán I-BABP fehérjét 20 órán át inkubáltunk, majd változó térfogat arányok mellett urea-mentes pufferbe hígítottuk. Vizsgálataink során Trp fluoreszcenciát monitoroztunk.

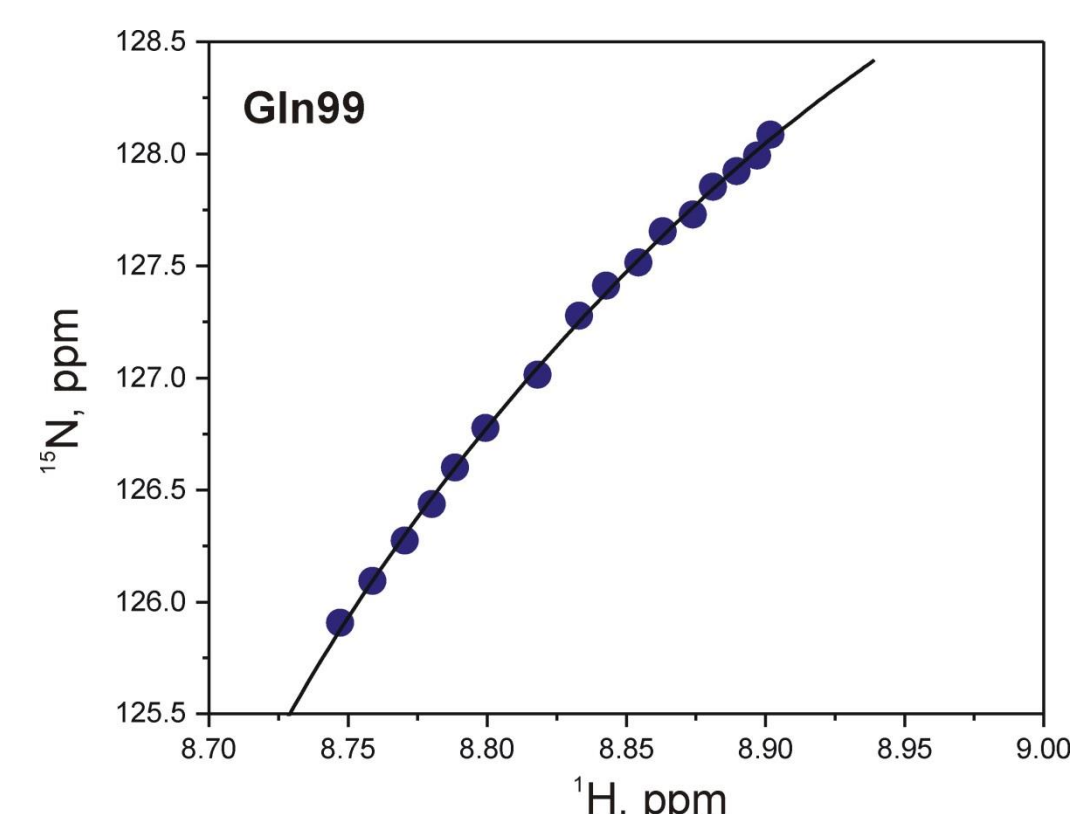


Az aminosav-pozíciók 70%-ban <sup>1</sup>H/<sup>15</sup>N kémiai eltolódások nemlineáris hőmérsékletválasza.

Bi- és monoexponenciális illesztés eltérése a feltekeredést kísérő fluoreszcencia-változástól két különböző hígítási arány esetén:

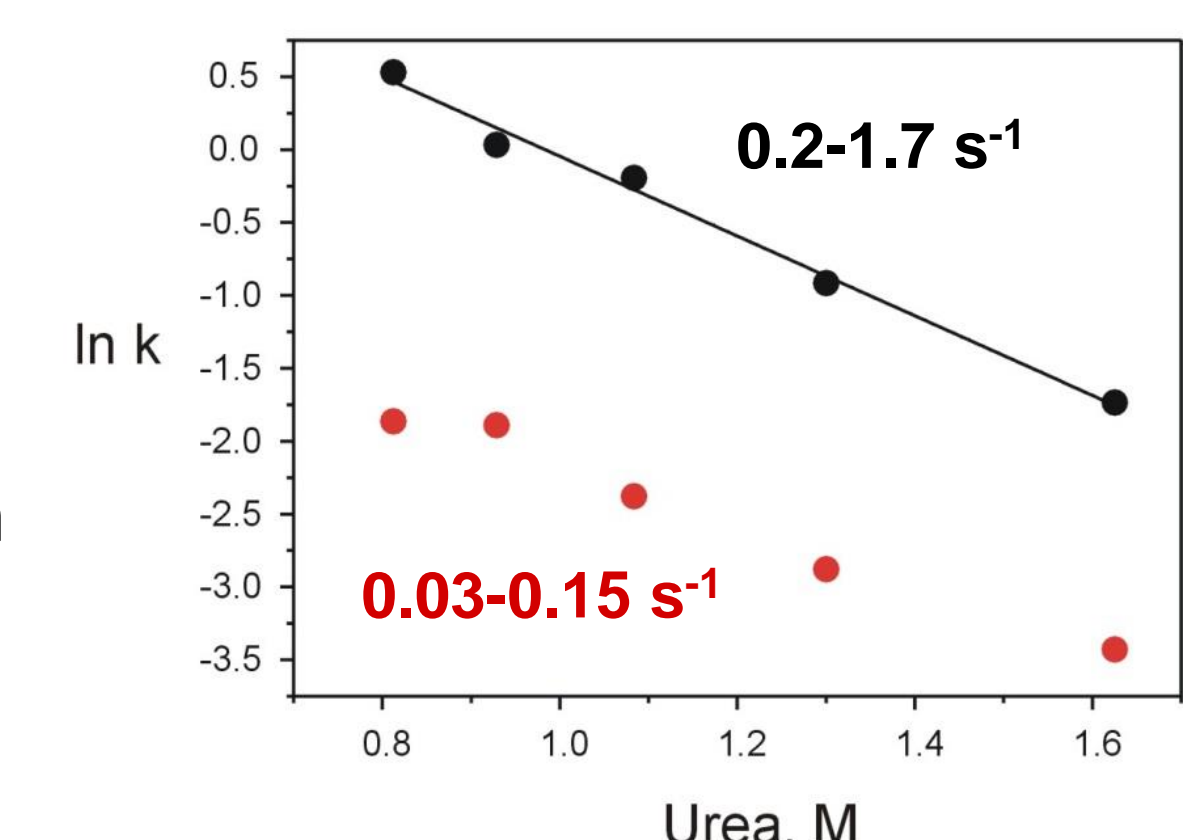


$F \leftrightarrow I_1 \leftrightarrow \dots$   
 $\Delta H^{F-I_1} \sim 33 \text{ kJ/mol}$   
 $T_C^{F-I_1} \sim 330 \text{ K}$   
 $\Delta C_p^{F-I_1} \sim 0 \text{ J/K}$



$F \leftrightarrow I_1 \leftrightarrow I_2 \leftrightarrow \dots$   
 $\Delta H^{F-I_1} \sim 32 \text{ kJ/mol}, \Delta H^{I_1-I_2} \sim 47 \text{ kJ/mol}$   
 $T_C^{F-I_1} \sim 302 \text{ K}, T_C^{I_1-I_2} \sim 332 \text{ K}$   
 $\Delta C_p^{F-I_1} \sim 300 \text{ J/K}, \Delta C_p^{I_1-I_2} \sim 200 \text{ J/K}$

Biexponenciális illesztéssel nyert látszólagos sebességi állandók a végső urea-koncentráció függvényében (20 °C)



Mind az NMR spektroszkópiás, mind a stopped-flow fluoreszcenciás vizsgálatok többállapotú le- illetve feltekeredést jeleznek.

NMR spektroszkópiás mérések alapján heterogenitás az aminosav szekvencia mentén. A hidrofób mag és a perifériális N-terminális szegmens eltérő viselkedése a hőmérséklet függvényében.