

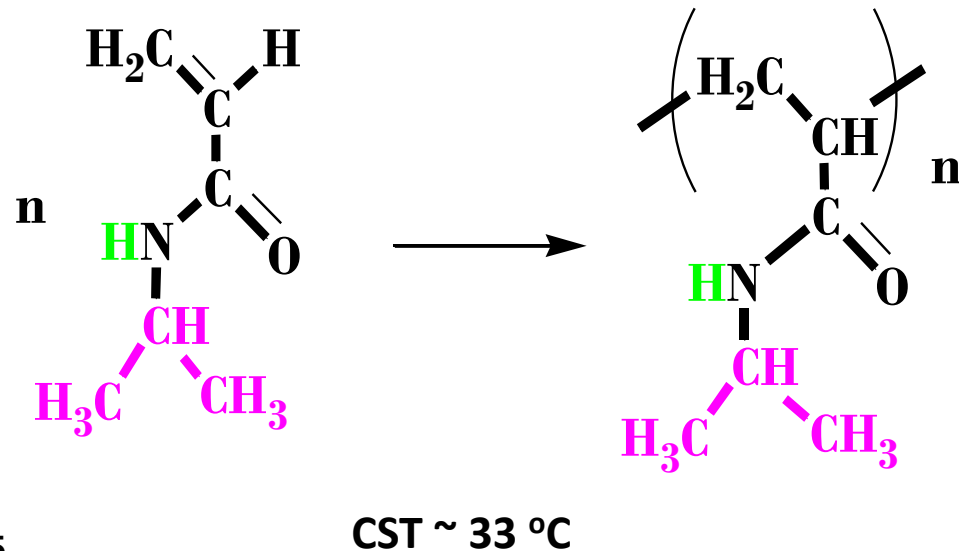
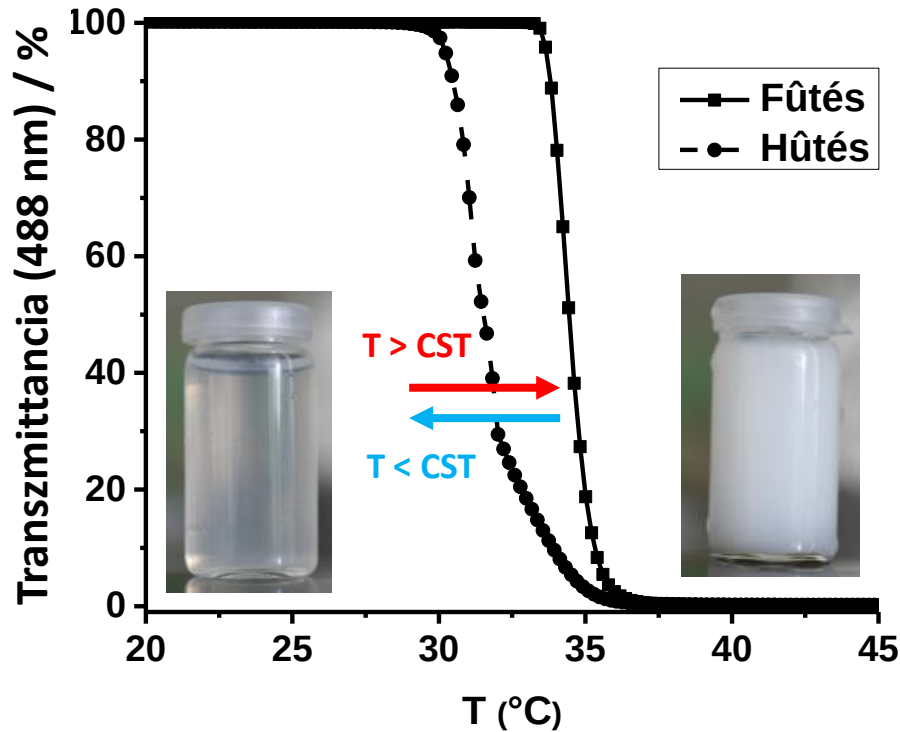
POLI(*N*-IZOPROPIL-AKRILAMID) ÉS GLOBULÁRIS VALAMINT RENDEZETLEN FEHÉRJÉK HŐMÉRSÉKLETFÜGGŐ KÖLCSÖNHATÁSÁNAK VIZSGÁLATA

Láng András¹, Némethné Szabó Beáta², Osváth Zsófia³

- 1) MTA-ELTE, Fehérjemodellező Kutatócsoport,
- 2) MTA TTK, Rendezetlen Fehérjék Kutatócsoport,
- 3) MTA TTK, Polimer Kémiai Kutatócsoport

Budapest, 6. MedInProt konferencia, 2017. április 22.

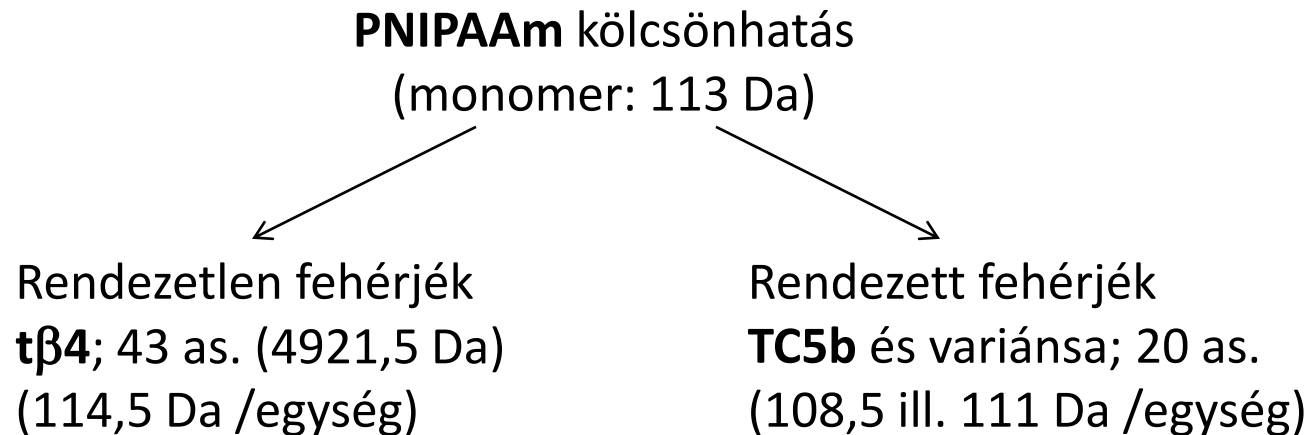
Poli(*N*-IzoPropil-AkrilAmid), azaz PNIPAAm termoreszponzív polimer kölcsönhatása fehérjékkel



CST = critical solution temperature

Aseyev et al. (2011) Adv. Polym. Sci. 242:29

PNIPAAm termoreszponzív polimer kölcsönhatása fehérjékkel



Milyen a kölcsönhatás?

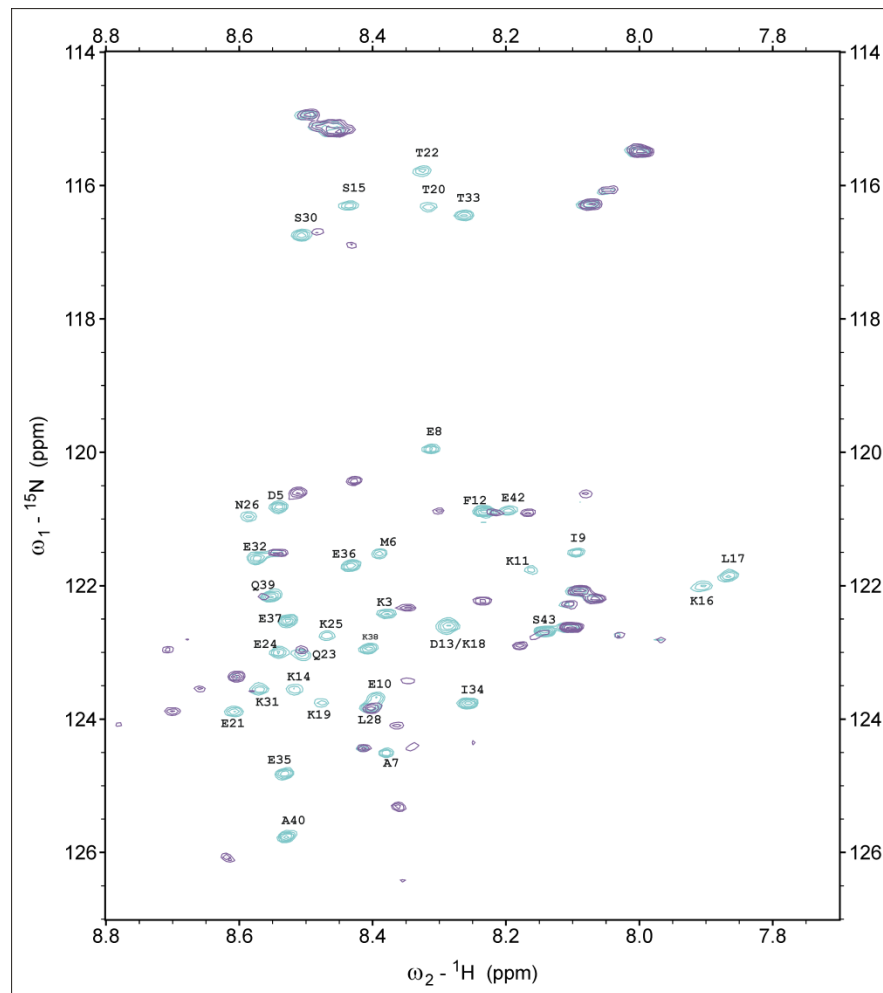
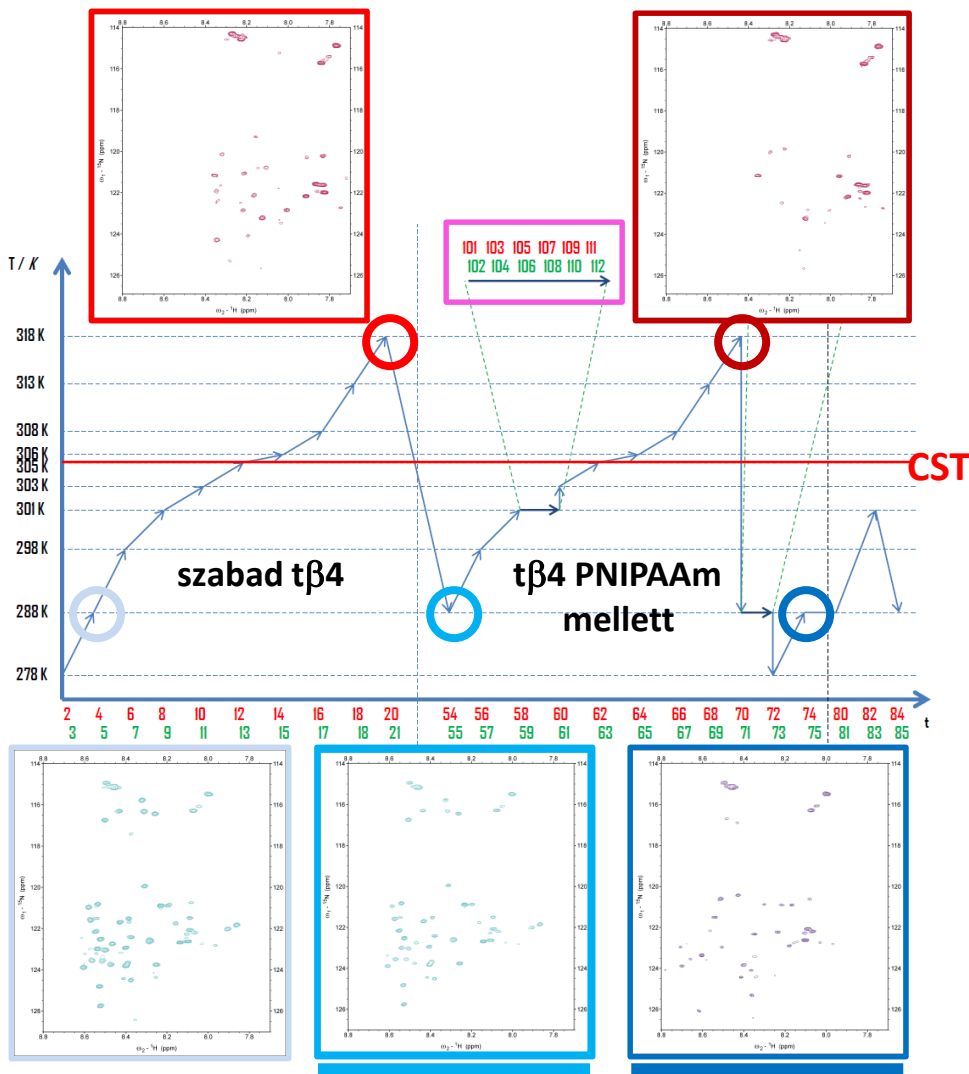
NMR

- kémiai eltolódás
- dinamika; relaxáció
(intenzitás, integrál)
- diffúzió

UV-VIS

Rendezetlen fehérje modell: thymosin- β 4 (t β 4)

SDKPDMAEIEKFDKSKLKKTTETQEKNP~~L~~PSKETIEQEKQAGES

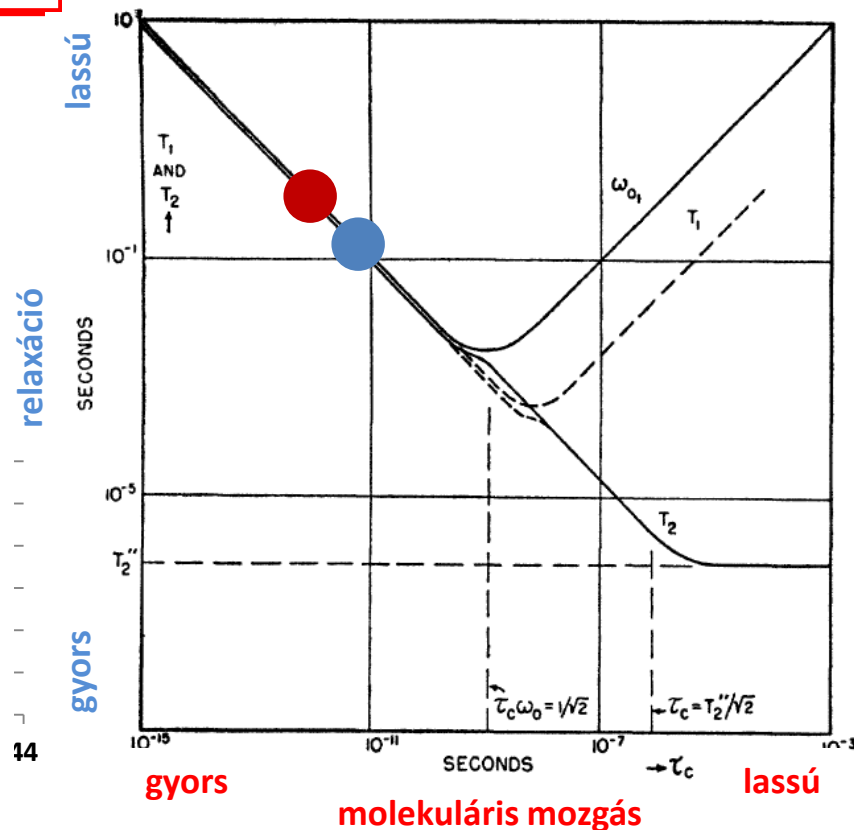
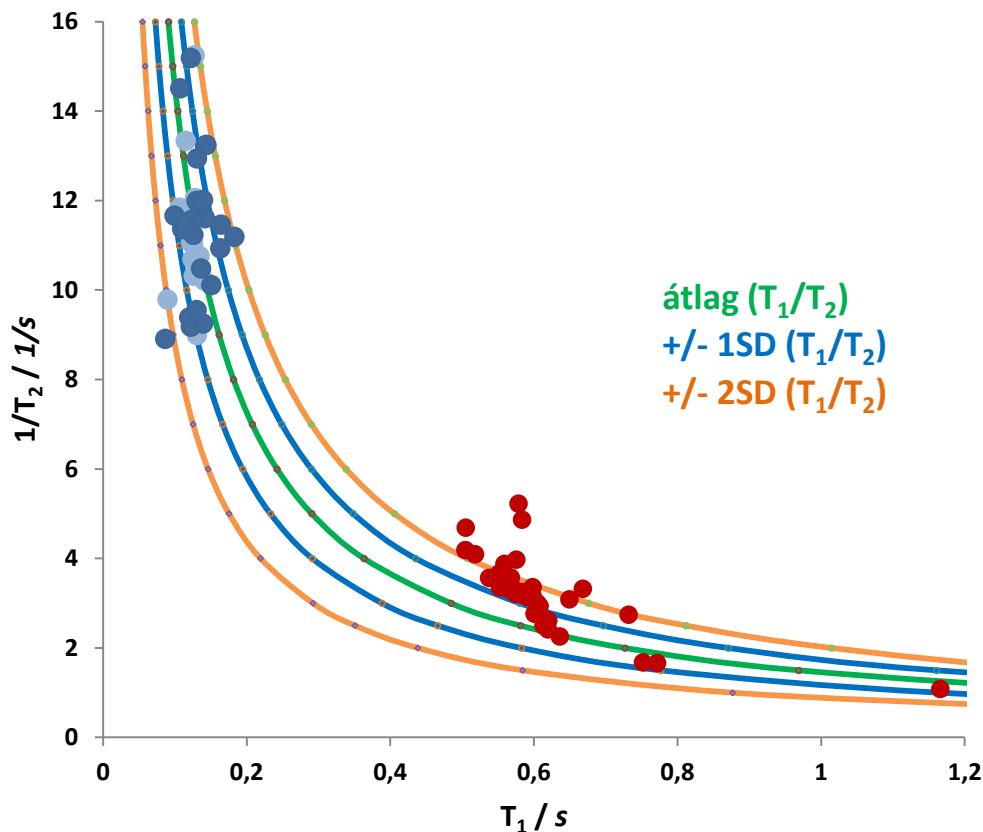


T=15°C, pH=6,53

6,67 mg/ml t β 4 6,33 mg/ml PNIPAAm

Rendezetlen fehérje modell: thymosin- β 4 (t β 4)

SDKPDMAEIEKFDKSKLKKKTETQEKNP.T.PSKETTFQFKOAGES



Relaxációs idő változása? Mozgékonyság változása a PNIPAAm hatására?

szabad t β 4 $\rightleftharpoons$ **t β 4 + PNIPAAm**

T_1/T_2 : **1,91** $\rightleftharpoons$ **1,45**

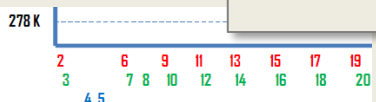
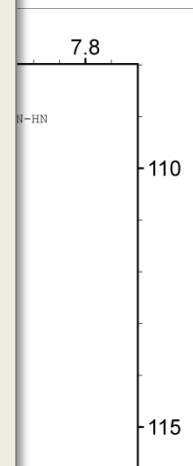
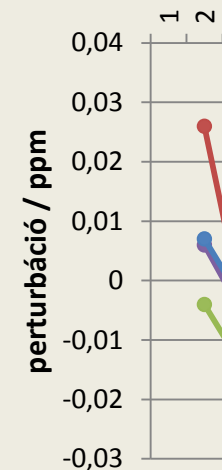
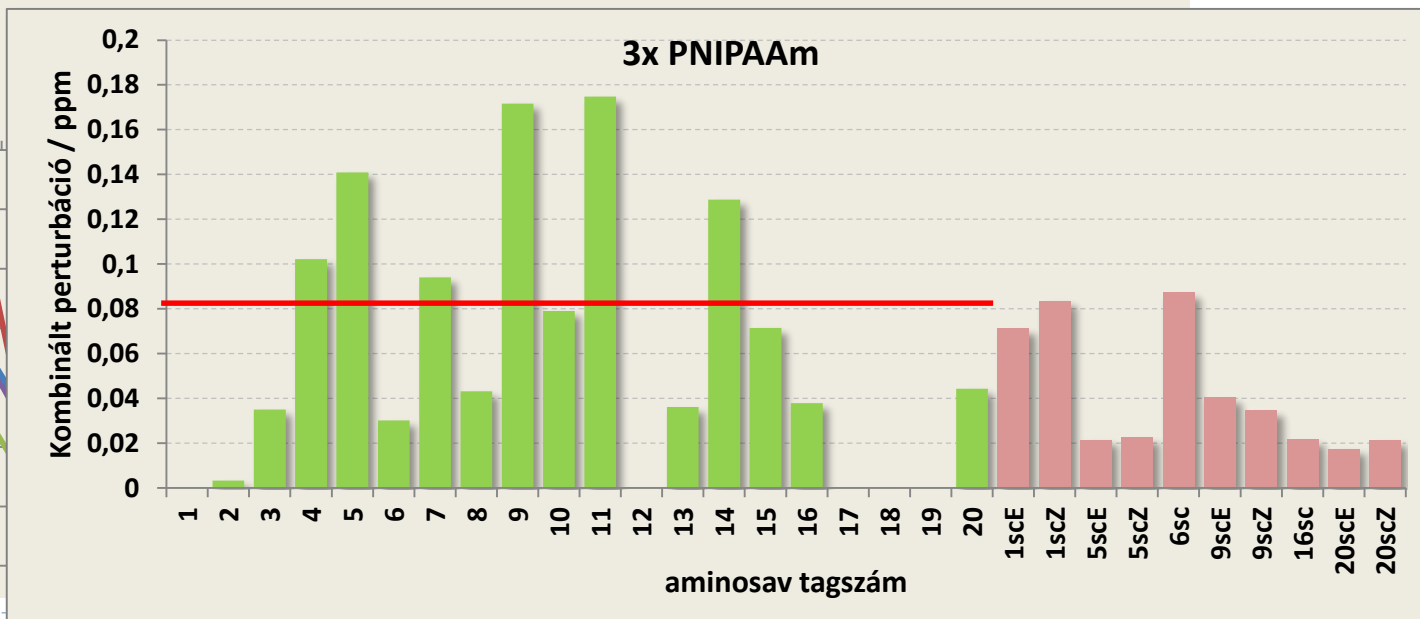
T=15°C, pH=6

2,54 mg/ml t β 4

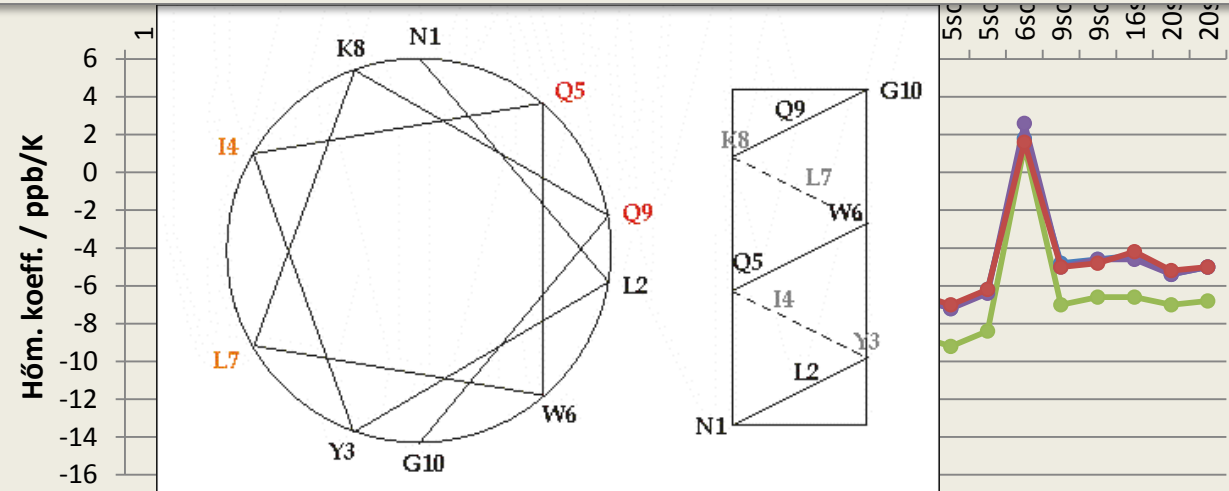
11,69 mg/ml PNIPAAm

Bloembergen et al. (1948) Phys. Rev. 73(7):679-712.

Globuláris fehérje: Tc5bQQ és PNIPAAm



pH=6,52
 1,10 mg/ml Tc5bQQ
 2,73 mg/ml PNIPAAm
 8,18 mg/ml PNIPAAm

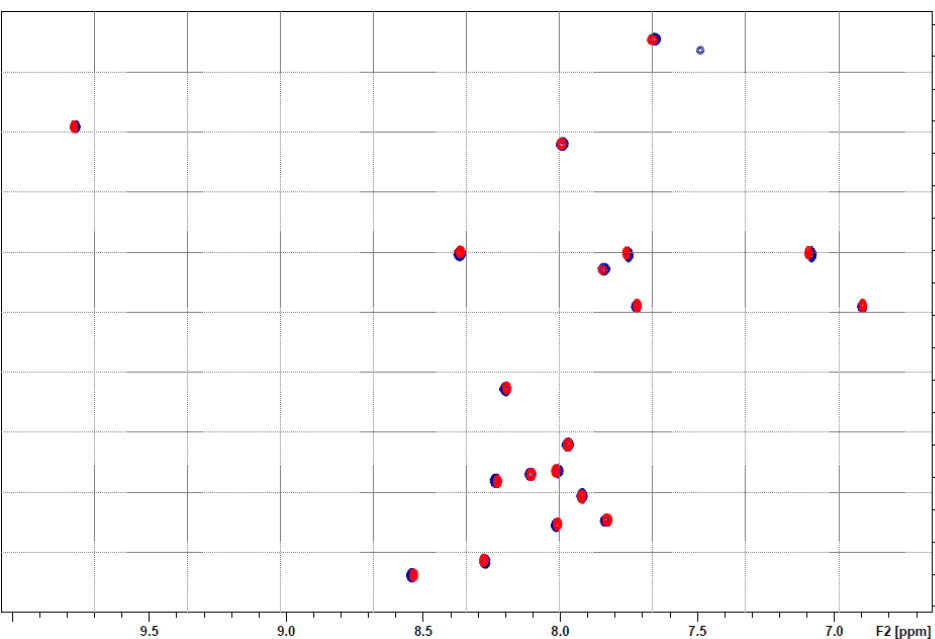


—●— Tc5bQQ low
 —●— Tc5bQQ high
 —●— PNIPAAm low
 —●— PNIPAAm high

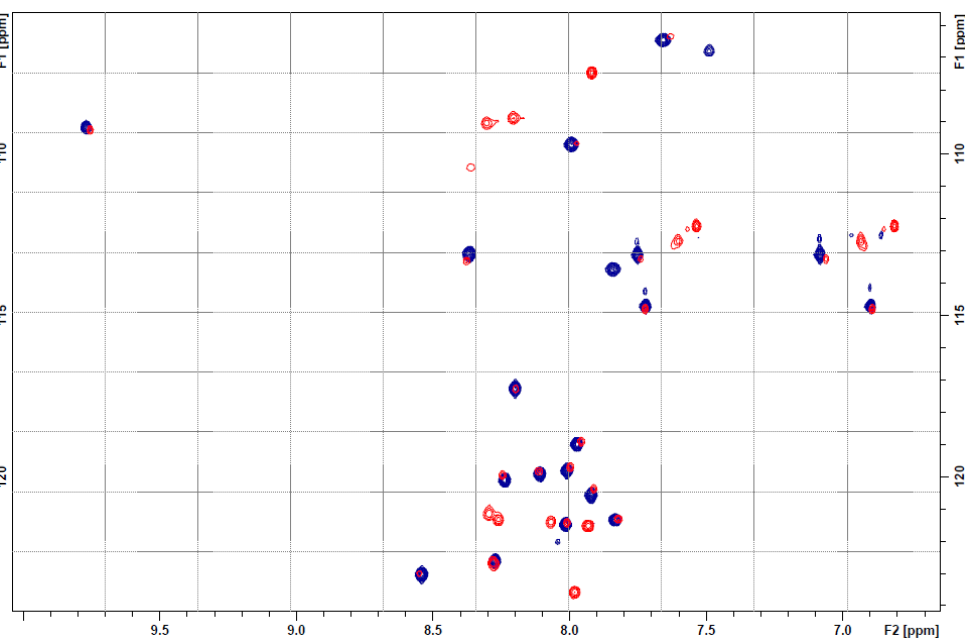


Tc5b minifehérje és PNIPAAm

NLYIQWLKDGGPSSGRPPPS



szabad ~ kevés PNIPAAm (1:1)



szabad < sok PNIPAAm (1:3)

idővel teljesen új eltolódások jelennek meg

Nincs számottevő eltolódás változás

Megváltozott kémiai környezet

pH=6

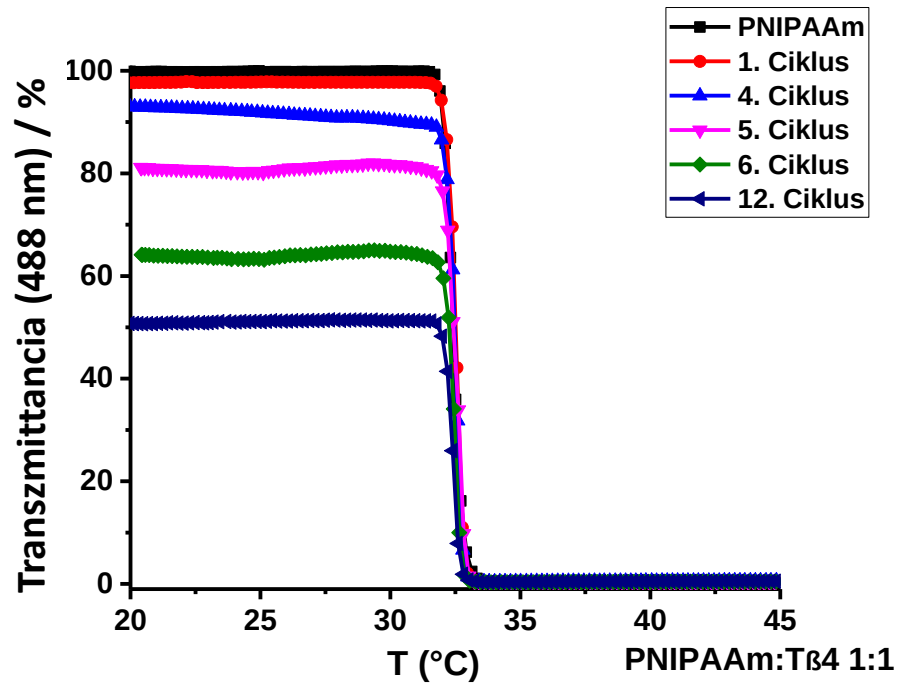
2,73 mg/ml Tc5b

11,28 mg/ml PNIPAAm

22,55 mg/ml PNIPAAm

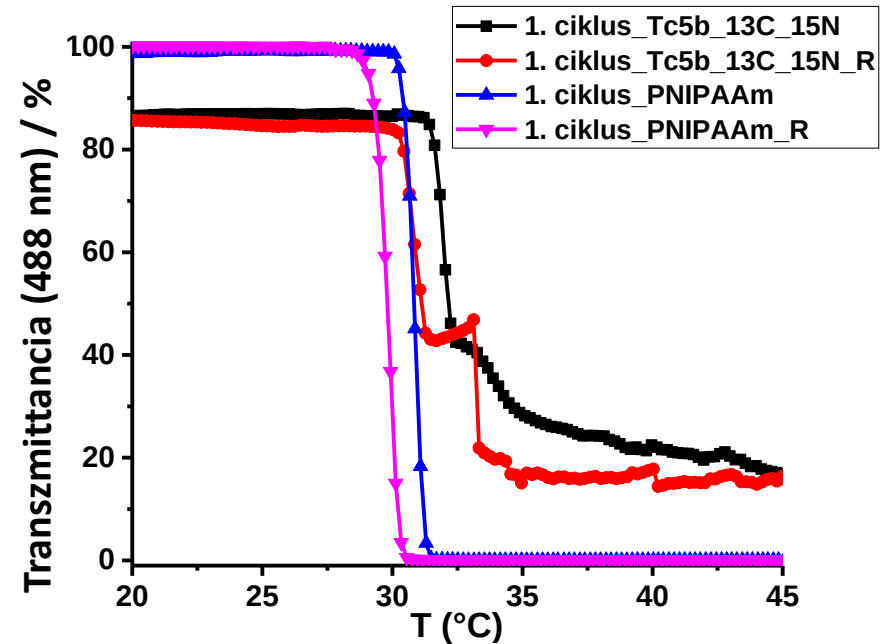
Transzmittancia változása fűtés/hűtés során

T β 4 (rendezetlen)



CST nem változik
Egylépéses folyamat
Elhúzódó jelenség

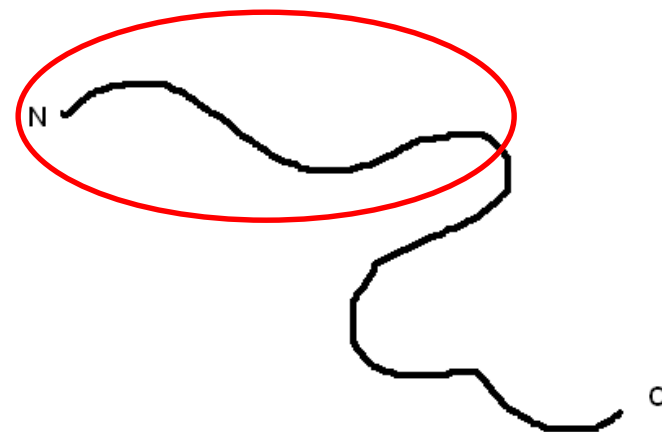
Tc5b (rendezett)



CST növekszik
Többlépéses folyamat
Nem kétállapotú

Összefoglalás

1) PNIPAAm jelenlétében a **rendezetlen molekula** jelei elvértve változnak, viszont hamar eltűnnek a jelei. Erre az időállandó szerint a molekula **első fele érzékenyebb**. A polimer a t β 4-re időben elnyújtott hatással van. **Az N-terminális α -hélix-képzésre preformált (actin monomer kötés).**



2) **Rendezett molekula** mellett a PNIPAAm sol-gél átalakulás CST értéke változik. A kölcsönhatás idő- és koncentrációfüggő. Spektrálisan nincs különbség az alacsony (sub-CST) és a magas (supra-CST) hőmérsékleten észlelt PNIPAAm hatásban (1:1). A hőmérsékleti koeficiensekben sem látni eltérést. Nagyobb PNIPAAm koncentráció (1:3) jelentős perturbációt okoz a TC5bQQ spektrumában. Legnagyobb hatás az **amfifil hélix** két Gln-ját és az egyik extrahelikális Gly-t és Ser-t továbbá kisebb mértékben a hélix Leu és Ile aminosavait érinti.

Mindkét csoportban a kölcsönhatás az **α -hélix** szerepét mutatja.

Köszönetnyilvánítás

MTA TTK, Polimer Kémiai Kutatócsoport

Prof. Iván Béla

ELTE TTK, Szerves Kémiai Tanszék

Dr. Bodor Andrea	relaxáció
Dr. Schlosser Gitta	MS
Dudás Erika	DOSY
Taricska Nóra	Tc5b, Tc5bQQ

