

Osváth Szabolcs

Fehérjék szerkezetváltozásai és kölcsönhatásai

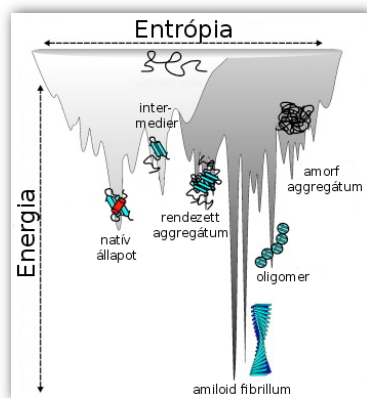
A fehérjék az élettani folyamatokban kiemelkedő fontosságú biológiai polimerek. A működőképes térszerkezetük kialakulásához szükséges információ a polimer szekvenciájában van kódolva. A kód „kiolvasását” a fehérje véletlenszerű konformációból aktív struktúrába történő gombolyodása (folding) jelenti. Mára már több élőlénynek, köztük az embernek is a teljes genetikai állománya ismert. A genetikai kód azonban a szerkezet fehérjemolekuláinak csak a szekvenciáját tárhatja fel, azok térszerkezetéről, és élettani szerepét meghatározó kölcsönhatásairól nem nyújt közvetlen információt.

A fehérjék képesek rosszul gombolyodott szerkezetek kialakítására is (misfolding), amelyek hajlamosak aggregálódni, és béta-redős szerkezetű ún. amiloid fibrillumokat kialakítani. Több, mint húsz olyan betegség ismert (pl. az Alzheimer kór, a II típusú diabetes, a Creutzfeld-Jacob szindróma), amelyeknél a probléma az, hogy olyan fehérjék, amelyek natív állapotukban vízdékonyak, amiloid plakkokba aggregálódnak. Ugyanakkor megfigyelték funkcionális amiloid szerkezetek képződését is emlős sejtekben.

Azon törvényszerűségeknek a megértése, amelyek a fehérjék aggregációját, kölcsönhatásait, vagy a biológiailag aktív szerkezetének kialakulását meghatározzák, a strukturális biológia egyik legérdekesebb megoldatlan feladata.

A natív és az amiloid szerkezetek kialakulását irányító intra- és inter-molekuláris kölcsönhatások feltárására kísérleteket végzünk, amelyeket termodinamikai modellek felhasználásával értelmezzünk.

A kísérletek első lépése a modellként használt fehérjéknek és különböző mutánsainak rekombináns kifejezése, tisztítása, és ha szükséges, különböző fluorofórokkal való kovalens jelölése. Az így elkészített fehérjemintákon, a



molekulaszerkezet megváltozását valamely intenzív termodinamikai paraméter (pH, nyomás, hő-mérséklet, stb.) változtatásával idézzük elő. A szerkezet átalakulásának folyamatát spektroszkópiai módszerek (fluoreszcencia, abszorpció, cirkuláris dichroizmus mérések) segítségével követjük nyomon a milliszekundumtól több napig terjedő tartományban.

A makromolekuláris szerkezetváltozások és kölcsönhatások mechanizmusába mély betekintést nyújtanak az energiafelszín modellek (ábra).

A fehérje minden egyes mikroállapotához (konformációjához) hozzárendelhető a fehérje-oldószer rendszer szabad entalpiája. Ez a szabadentalpia a makromolekulán belüli, és a vizesfázissal kialakított kölcsönhatásokból, valamint az oldószerből jövő entrópia tagból áll össze, és a fehérje konformációs tere fölött értelmezett szabad-entalpia felszít rajzol ki. Állandó nyomáson és hőmérsékleten a rendszer a legkisebb szabadentalpiájú állapot felé fog tartani. A fehérje makroszkopikusan észlelhető dinamikája szempontjából nem egyformán fontos az összes mikroszkopikus koordináta. A lényegtelen koordináták elhagyása egyszerűsíti a konformációs teret, de behoz egy új fehérje-entrópia tagot. A fehérjék dinamikájának energia felszín leírását sikeresen alkalmaztuk több fehérjegombolyódási folyamat vizsgálatára.

A fentebb leírt kutatómunkánk eredményei (1-5) a folding és misfolding jelenségkör alapjainak jobb megértése felé tett lépések azon az úton, amelyik elvezethet az amiloidózissal járó betegségek gyógyításáig.

1. Osváth, S.; Gruebele, M. (2003) *Biophys. J.* 85, 1215-1222, Proline can have opposite effects on the fast and slow folding phases of multidomain proteins.
2. Osváth, S.; Sabelko, J.J.; Gruebele, M. (2003) *J. Mol. Biol.* 333, 187-199, Tuning the Heterogeneous Early Folding Dynamics of Phosphoglycerate Kinase.
3. Osváth, S.; Köhler, G.; Závodszy, P.; Fidy, J. (2005) *Protein Science* 14, 1609-1616, Effect of Domain Interactions on the Kinetics of Folding in Yeast Phosphoglycerate Kinase.
4. Osváth, S.; Jäckel, M.; Agócs, G.; Závodszy, P.; Köhler, G.; Fidy, J. (2006) *Proteins: Structure, Function, Bioinformatics* 62, 909-917, Domain Interactions Direct Misfolding and Amyloid Formation of Yeast Phosphoglycerate Kinase.
5. Osváth S., Herényi L., Závodszy P., Fidy J., Köhler G. (2006) *Journal of Biological Chemistry* 281, 24375-24380, Hierarchic Finite Level Energy Landscape Model – to Describe the Refolding Kinetics of Phosphoglycerate Kinase.