

mgr Dorota Anna Kubiak

Tytuł rozprawy doktorskiej: Synteza oraz badania konformacyjne fragmentów peptydowych tworzących zwroty w wybranych białkach oraz ustalenie sposobu wiązania tych fragmentów białek z jonami Cu(II) i Zn(II).

Streszczenie w języku polskim:

Prawidłowe zwinienie się (ang. *fold*ing) białka jest jego swoistą cechą i warunkiem prawidłowego funkcjonowania. Nieprawidłowe zwinienie się białka, będące często wynikiem mutacji, prowadzi zwykle do agregacji i zapoczątkowania procesów patologicznych. Akumulacja białek patologicznych w organizmie jest szkodliwa dla komórek nerwowych i najczęściej prowadzi do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych.

Liczne badania konformacyjne dowiodły, że zwrot typu β jest pierwotnym elementem strukturalnym, który zapoczątkowuje powstawanie oddziaływań nielokalnych w białkach i w konsekwencji utworzenie jego trójwymiarowej struktury. Wykazano, że niektóre fragmenty wyizolowane z białka, i zachowane w roztworze wodnym, pozostają w takiej konformacji, jaką przyjmują w białku rodzicielskim.¹ Fragmenty te mogą odgrywać bardzo ważną rolę jako centra inicjujące strukturę zwrotu przez lokalnie występujące interakcje pomiędzy naładowanymi resztami aminokwasowymi.² Temperatura, w której rozpoczyna się proces zwiniania oraz określona struktura w danej temperaturze, okazują się być cenną informacją w poznawaniu całego procesu fałdowania białka. Wartości stałych dysocjacji kwasowej (pK_a) dla procesu oddysocjowania protonów obecnych w łańcuchach bocznych sprotonowanych reszt aminokwasowych w białku ściśle wiążą się z kształtem jego konformacji. Niewątpliwie istotną informacją jest także poznanie entalpii dysocjacji protonu odszczepionego od poszczególnej reszty aminokwasowej oraz kolejność deprotonowania jonizowalnych grup bocznych reszt aminokwasowych w peptydach.

Celem mojej pracy było zaplanowanie i wykonanie syntezy wybranych fragmentów peptydowych pochodzących z białek FBP28, IgG1 oraz z hPin1. Następnie przeprowadziłam wstępne badania strukturalne dla otrzymanych związków przy zastosowaniu metod eksperymentalnych (badania metodą dichroizmu kołowego, skaningowej kalorymetrii

¹ M. S. Searle, D.H. Williams, L.C. Packman, *Nat Struct Biol*, 1995, 2, 999-1006.

² K. A. Dill, *Biochemistry*, 1990, 29, 7133-7155.

różnicowej, miareczkowania potencjometrycznego, spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego) oraz obliczeń przy zastosowaniu dynamiki molekularnej.

Istotnym elementem mojej pracy była analiza właściwości kwasowo-zasadowych trzech zsyntezowanych fragmentów białka hPin1 bogatych w reszty argininy oddzielone od siebie kilkoma innymi resztami aminokwasowymi. Badania te przeprowadziłam za pomocą miareczkowania potencjometrycznego w trzech temperaturach.

Ostatnim etapem mojej pracy było zbadanie oddziaływań wybranych fragmentów białek z jonami metali (Cu^{2+} i Zn^{2+}) przy zastosowaniu izotermicznej kalorymetrii miareczkowej. Na podstawie otrzymanych danych pomiarowych wyznaczyłam funkcje termodynamiczne reakcji powstawania kompleksów. Uzyskane wyniki pomiarów kalorymetrycznych umożliwiły mi ustalenie zależności między właściwościami fizykochemicznymi badanych peptydów a ich powinowactwem do jonów metali.

Badania udowadniają, że kształt β -zwrotu ściśle zależy od ilości i rozmieszczenia naładowanych reszt aminokwasowych w łańcuchu polipeptydowym, zaś równowaga konformacyjna badanych związków ściśle zależy od temperatury.