

Streszczenie

Zachodzące pod wpływem czynników środowiskowych zmiany konformacyjne w białkach, są ważnym zjawiskiem, które pozwala na poznanie i zrozumienie wielu podstawowych procesów molekularnych, zachodzących w organizmach żywych. Jednym z takich czynników są różnego rodzaju związki chemiczne czy makromolekuły, które dodane do roztworu zawierającego białko, wpływają na jego strukturę, zarówno II-, III- jak i IV-rzędową. Do takich związków należy dodecylosiarczan sodu (SDS, ang. sodium dodecyl sulfate) – anionowy surfaktant, który wywołuje w białkach zmiany konformacyjne.

Dodecylosiarczan sodu, wpływa zarówno na strukturę II- jak i III-rzędową wszystkich 5 badanych w ramach tej rozprawy doktorskiej białek: α -chymotrypsyny, α -chymotrypsynogenu, albuminy, lizozymu oraz α -laktoalbuminy. Nie ma natomiast jednej, uniwersalnej ścieżki tych zmian. Widać, że SDS wpływa na zmiany konformacyjne w białkach już w stężeniach milimolowych, ponadto zmiany te są widoczne zarówno poniżej jak i powyżej krytycznego stężenia micelizacji (CMC, ang. critical micelle concentration). W zależności od wartości stężenia, ścieżki tych zmian są różne, co pozwala stwierdzić, że badane białka wiążą i pojedyncze cząsteczki surfaktantu i micelle, a to z kolei może oznaczać, że istotną rolę w zmianach konformacyjnych białek odgrywają ich interakcje nie tylko z micelami, ale również z pojedynczymi cząsteczkami SDS.

Struktura, którą przyjmuje białko po zakończeniu wiązania z SDS może, ale nie musi być jego stabilną strukturą końcową. Zmiany wywoływane przez SDS w strukturze II- i III-rzędowej mogą zachodzić z różną szybkością, a rejestracja parametrów fizycznych, takich jak fluorescencja czy dichroizm kołowy pokazuje różne aspekty tych zmian, które są związane z różnymi cechami struktury białka.

Duże znaczenie w badaniach układu białko-SDS, ma procedura przygotowywania próbek do badań, a dokładnie fakt, czy przed osiągnięciem końcowego stężenia SDS, wyjściowy roztwór białka, zawierał już pewną ilość surfaktantu czy też nie. Co ciekawe, w przypadku zmian w strukturze II- i III-rzędowej lizozymu oraz albuminy, zmiany te nie zależą od procedury prowadzącej do osiągnięcia końcowego stężenia SDS w roztworze, natomiast zupełnie inaczej jest w przypadku w przypadku α -chymotrypsyny oraz α -laktoalbuminy. Dla α -chymotrypsyny, procedura ma wpływ zarówno na zmiany zachodzące w strukturze II- i III-rzędowej, a dla α -laktoalbuminy ma wpływ tylko na zmiany w strukturze III-rzędowej.

Kolejnym niezwykle ważnym czynnikiem wpływającym na zmiany strukturalne w białkach pod wpływem dodecylosiarczanu sodu jest siła jonowa roztworu. Widać to zarówno w pomiarach stacjonarnych jak i kinetycznych z rejestracją zarówno sygnału dichroizmu kołowego jak i fluorescencji. Nie ma jednak jednej uniwersalnej ścieżki zachodzących zmian. Siła jonowa wpływa ponadto na szybkość procesu zmian konformacyjnych zachodzących w biomolekułach oraz na jego etapowość.

Następnym niezwykle ciekawym zjawiskiem, które zostało zarejestrowane w trakcie badań układu α -chymotrypsyna-SDS, jest fakt, że wkład fluorescencji emitowanej przez poszczególne tryptofany w białku do całkowitej zarejestrowanej fluorescencji białka, zależy od długości fali wzbudzenia – nie dlatego, że sama fluorescencja tryptofanów zależy od energii wzbudzenia, lecz dlatego, że ścieżki bezpromienistej utraty energii przez tryptofany, zachodzą z różnym prawdopodobieństwem.

Podsumowując, zmiany strukturalne zachodzące w białkach pod wpływem dodecylosiarczanu sodu, są zjawiskiem niezwykle ciekawym i dającym często nieprzewidywalne wyniki. Ilość czynników mogących wpływać na zachodzące zmiany, zarówno w strukturze II- jak i III-rzędowej jest bardzo duża a ich skutek w znacznej mierze zależy od badanego białka.