

Název: Studium struktury a dynamiky proteinů pomocí optické spektroskopie

Autor: Tomáš Pazderka

Ústav: Fyzikální ústav UK

Vedoucí doktorské práce: RNDr. Vladimír Kopecký, Ph.D., Fyzikální ústav UK

Abstrakt: Cílem práce je zdokonalit experimentální techniky vibrační spektroskopie (především vibrační optické aktivity - VOA) a metodiky pro zpracování dat, vedoucí k lepšímu pochopení struktury a dynamiky proteinů. Byla vypracována metodika pro intenzitní kalibraci spekter Ramanovy optické aktivity. Užitečnost metody byla demonstrována na ROA spektrech změřených na různých přístrojích a/nebo za použití více přístrojových konfigurací. Modifikací konvenčního přístroje pro měření spekter vibračního cirkulárního dichroismu (VCD) byl sestaven spektrometr umožňující mikroskopická měření VCD spekter s prostorovým rozlišením 1 mm. S využitím této techniky byly nalezeny prostorové nehomogenity ve vzorku proteinových fibril. Pomocí metod optické spektroskopie byly zkoumány modelové molekuly pro neplanaritu amidové vazby a byly identifikovány klíčové spektrální znaky pro určování neplanarity amidové vazby a její absolutní konfigurace. Byla změřena úplná sada Ramanových spekter proteinogenních aminokyselin. Byly identifikovány a následně diskutovány závislosti spekter na koncentraci a formě vzorku. Rozhodovací pravidla pro dvoudimenzionální korelační spektroskopii (2DCoS) byla rozšířena i na spektra s pásy obou znamének. Byla spočítána a analyzována 2DCoS spektra pro modelová VOA (obouznaménková) spektra. S pomocí vibrační spektroskopie a 2DCoS byl sledován proces oligomerizace proteinů. S využitím hetero-vzorkové 2DCoS byl studován rozdíl v chování dvou fenotypů lidského haptoglobinu. Dynamika α_1 -kyselého glykoproteinu a jeho komplexu s ligandem byla zkoumána pomocí Ramanovy spektroskopie a analýzy hlavních komponent. Byly odhaleny a diskutovány rozdíly v chování obou systémů. Proces fibrilace proteinů v H_2O/D_2O byl zkoumán pomocí VCD a byly identifikovány pásy příslušející vibracím amidu I.

Klíčová slova: dvoudimenzionální korelační analýza, peptidy a proteiny, vibrační optická aktivita, struktura a dynamika