Abstrakt

Bakalářská práce: Vliv sterické exkluze na biochemickou aktivitu molekulárních motorů

Adéla Brucknerová, 2022

Cytoskelet a s ním spojené proteiny, tzv. molekulární motory, jsou součástí buněčného aparátu všech eukaryotických buněk. Molekulární motory, mezi něž patří kinesin-1, mají schopnost se na cytoskelet dočasně vázat a přenášet po něm v rámci buňky váčky s nákladem (např. organelou). Při tomto pohybu štěpí molekuly kinesinu-1 pro každý krok v rámci chemomechanického cyklu molekulu ATP. Ukazuje se, že průběh chemomechanického cyklu molekulárních motorů může být ovlivněn přítomností inertních makromolekul, ale jak tyto molekuly ovlivňují kinesin, není zcela známo.

Pomocí fluorescenční mikroskopie s totálním vnitřním odrazem byly *in vitro* zobrazovány jednotlivé molekuly kinesinu-1, byl snímán jejich pohyb po rekonstituovaných mikrotubulech a měřena jejich průměrná rychlost. Experimenty probíhaly při různých koncentracích inertních makromolekul, polyethylenglykolu, o molárních hmotnostech 6 kg/mol, 1000 kg/mol a jejich kombinací. Z rychlosti pohybu kinesinů byla zjištěna jejich biochemická aktivita (hydrolýza molekul ATP) při různých koncentracích polyethylenglykolu.

Ve shodě s předchozími výzkumy se ukázalo, že makromolekuly velikostně podobné rozměrům motorové domény kinesinů významně snižují biochemickou aktivitu motorů při zvyšující se koncentraci makromolekul, a to zřejmě sterickými efekty. Naproti tomu makromolekuly výrazně přesahující rozměry motorové domény na kinesiny nemají zásadní vliv ani při koncentracích způsobujících velmi vysokou viskozitu roztoku. Při kombinaci obou použitých typů polyethylenglykolu se značně posílil sterický efekt bránění pohybu motorové domény oproti podmínkám, kdy byl v roztoku přítomen pouze jeden z obou typů. Tato práce ukazuje, jak mohou inertní makromolekuly ovlivňovat enzymovou aktivitu molekulárních motorů.

Klíčová slova: molekulární motory, kinesin-1, shlukování makromolekul, sterická exkluze, cytoskelet, polyethylenglykol