

Název práce: Iontově specifické hofmeisterovské efekty na peptidy a proteiny

Autor: Ing. Jana Hladílková

Katedra: Fyzikální a makromolekulární chemie

Vedoucí doktorské práce: Prof. Pavel Jungwirth, DSc., ÚOCHB AV ČR

E-mail vedoucího: pavel.jungwirth@uochb.cas.cz

Abstrakt: V této dizertaci byla použita klasická molekulová dynamika s pokročilými metodami analýzy dat pro doplnění a zároveň objasnění jevů týkající se Hofmeisterovy řady iontů. V kombinaci se širokým spekterem experimentálních metod byly studovány jak reálné proteiny, tak i modelové systémy v roztocích hofmeisterovských solí. Cílem práce bylo identifikovat a kvantifikovat specifické interakce iontů s peptidy a proteiny, které způsobují výsledné hofmeisterovské řazení kationtů a aniontů, či které toto pravidlo porušují.

Příkladem nehofmeisterovského chování je zrychlení enzymatické reakce BHMT transferázy pomocí draselných iontů, zatímco ostatní běžné monovalentní kationty nemají tento efekt. Molekulové simulace nám umožnily určit a detailně popsat vazebné místo poblíž aktivního místa enzymu, které bylo později krystalograficky potvrzeno. Specificita pro draselný kation byla vysvětlena na základě hydratačních vlastností jednotlivých kationtů a interakcí se záporně nabitými rezidui aktivního místa. Naproti tomu pouze malý efekt monovalentních kationtů na enzymatickou reakci, který odpovídá hofmeisterovskému řazení, byl pozorován pro LinB dehalogenázu. V tomto případě se kationty vážou u ústí tunelu vedoucího ke katalytické triádě, a proto pouze nepřímo ovlivňují rychlost reakce, což bylo podpořeno výpočty i měřeními mutovaných variací tohoto enzymu.

Dále byla provedena systematická studie interakcí aniontů s peptidy na modelových strukturách různých velikostí s podporou dat z nukleární magnetické rezonance. Výsledky pro (VPGVG)₁₂₀ polypeptid nejen odhalily dominanci interakcí aniontů s páteří peptidu, ale navíc ukázaly, že anionty nejsou přitahovány k nepolárním částem reziduí, jakým je například valin. Následující analýza triglycinu s oběma chránícími skupinami, který byl zvolen jako model peptidové vazby, potvrdila, že čím slaběji je aniont hydratován, tím silněji se váže na bílkovinou páteř ($\text{SCN}^- > \text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-}$). Ve výsledku se proto thiokyanát a jodid chovají jako vsolovací činidla, bromid a chlorid jako neutrální ionty, zatímco sulfát peptidy/proteiny vysoluje.

Efekt nabitých reziduí na interakce iontů s peptidy/proteiny byl kvantifikován na zwitteriontové (nechráněné) struktuře triglycinu. V tomto případě hraje hlavní roli interakce aniontů s pozitivně nabitým N-koncem molekuly, což vede k převrácení pořadí iontů v Hofmeisterově řadě ($\text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$). Thiokyanát porušuje toto řazení, jelikož se jako jediný váže jak na pozitivně nabitý N-konec tripeptidu, tak i na peptidovou vazbu, což mu umožňuje jeho nekulový tvar. Při přímém srovnání našich výsledků s experimentálními daty publikovanými v 70. letech, se nám podařilo odhalit chybu v původní publikaci. Ukázali jsme, že otištěné vsolovací konstanty souhlasí s našimi výpočty pro molekulu triglycinu s jednou chránící skupinou na N-konci, zatímco se rozcházejí s výsledky pro autory uvedenou oboustranně chráněnou variantu. Naš předpoklad byl potvrzen nereprodukovatelností posledního syntetického kroku v publikovaném článku.

Jako ukázka nového přístupu jdoucí za jednoduché principy hofmeisterovského vázání kationtů a aniontů na peptidy a proteiny, byly uvedeny výpočty a měření elektroforetických dat pro neutrální molekuly včetně elektroforetických markerů.

Klíčová slova: molekulová dynamika, proteiny, peptidy, ionty, Hofmeisterova řada iontů.