

Baltymų struktūriniai tyrimai naudojant DEER spektroskopiją

DEER spectroscopy for investigation of protein structures

Aistė Peštenytė¹, Gediminas Usevičius¹, Ieva Baronaitė², Darius Šulskis², Jūras Banys¹, Mantas Šimėnas¹

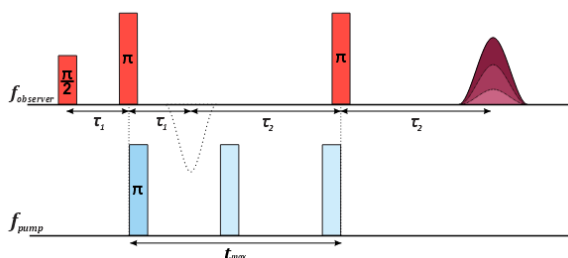
¹Vilniaus universitetas, Fizikos fakultetas, Saulėtekio al. 9, Vilnius

²Vilniaus universitetas, Gyvybės mokslų centras, Biotechnologijų institutas, Saulėtekio al. 7, Vilnius

aiste.pestenyte@ff.stud.vu.lt

Dvigubo elektrono – elektrono rezonanso (DEER) spektroskopija yra plačiai paplitusi struktūrinės biologijos srityje, suteikianti vertingos struktūrinės ir dinaminės informacijos apie įvairias biologines sistemas, kaip baltymai, RNR ir DNR [1].

DEER yra impulsinis elektronų paramagnetinio rezonanso (EPR) eksperimentas, kurio pagalba galima nustatyti atstumų pasiskirstymą tarp dviejų nesuporuotų elektronų sukinių nanometrinėje skalėje. DEER remiasi dviejų skirtingų dažnių mikrobangų impulsais, kurių metu vienas elektrono sukiny yra detektuojamas impulsiniu EPR metodu, o kitas – žadinamas, sukant jo įmagnetėjimo vektorių (1 pav.) [2]. Eksperimento metu stebimas dipolinės sąveikos kitimas tarp sąveikaujančių nesuporuotų elektronų, o tai leidžia nustatyti atstumą tarp jų.



1 pav. DEER eksperimento mikrobangų impulsų seka.

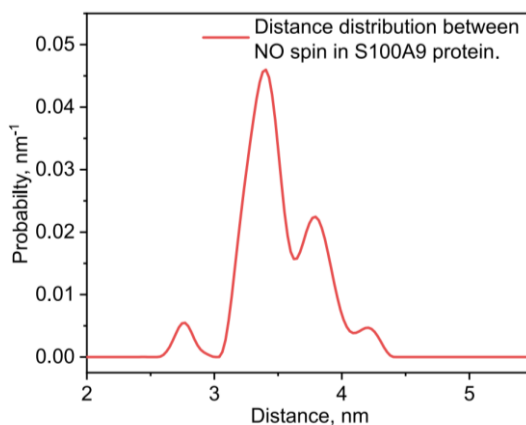
DEER tyrinėjamos sistemos dažniausiai sudaro biologinės sistemos, kurių didžioji dalis neturi nesuporuotų elektronų, t.y. negali būti studijuojamos EPR spektroskopijos būdu. Todėl į pasirinkamą molekulės vietą įtraukiamas nesuporuotas elektronas sukinių žymeklio pavidalu, naudojant *site-directed spin-labeling* (SDSL) metodą [2].

Greta DEER metodikos, siekiant nustatyti molekulės struktūrą, taip pat naudojama Rentgeno spindulių kristalografija, tačiau ji neleidžia nustatyti baltymų struktūrų tirpale. Kitas paplitęs metodas – branduolių magnetinis rezonansas (BMR), tačiau jis nėra tinkamas itin didelių baltymų tyrimams dėl itin sudėtingos BMR spektro interpretacijos bei gana žemo matavimų jautrumo [1]. Krioelektroninė mikroskopija (cryo-EM) taip pat suteikia vertingos informacijos apie molekulių struktūrą, tačiau ji gali būti naudojama tik dideliems baltymams (150-300 kDa). DEER šių apribojimų neturi ir gali būti naudojamas įvairios morfologijos bei dydžio baltymų tyrimams. [2].

Šiuo metu DEER yra laikomas galingu įrankiu tirti molekulių struktūrą [1], kadangi galima stebėti lokalias

struktūros pokyčius, sąveikas su kitomis molekulėmis, atstumo pokyčius tarp elektronų sukinių, vizualizuoti konformacinį nevienalytiškumą ir dinamiką.

Siekiant praktiškai nustatyti DEER spektroskopijos galimybes ir apribojimus, mes tyrėme S100A9 baltymą, turintį kalcį rišančius domenus, ir nustatėme atstumo pasiskirstymą tarp dviejų cisteino grupių (2 pav.). Šiame bandinyje kaip sukinių žymeklis buvo panaudotas nitroksido radikalas.



2 pav. Atstumo pasiskirstymas tarp elektronų sukinių S100A9 baltyme.

Reikšminiai žodžiai: DEER, EPR, ESR, spin labels.

Literatūra

- [1] Indra D. et al., *Use of electron paramagnetic resonance to solve biochemical problems*, Biochemistry 2013, 52, 35, 5967–5984
- [2] Jeschke G. *DEER distance measurements on proteins*. Annual review of physical chemistry. 2012 May 5;63:419-46.