



Μοριακή Δυναμική και Μεταπτώσεις Φάσης σε Συστήματα Πρωτεΐνης-Νερού

Παναγοπούλου Α., Πίσσης Π.

Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών, Ε.Μ.Π., Ηρώων Πολυτεχνείου 9, 157 80 Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρωτεΐνες αποτελούν κύριο συστατικό των βιολογικών κυττάρων και επιτελούν εξαιρετικά εξειδικευμένες λειτουργίες, όμως μόνο παρουσία ενός διαλύτη (νερού) και σε μια ορισμένη περιοχή θερμοκρασιών, δηλαδή στις συνθήκες που συναντούμε σε ένα ζωντανό κύτταρο [1]. Για τον Φυσικό όμως οι πρωτεΐνες είναι μακρομόρια και οι κινήσεις τους, τόσο οι μικρές κλίμακας (θερμικά διεγερόμενες) όσο και οι συνεργασιακές μεγάλης εμβέλειας, αμφότερες απαραίτητες για τη σταθερότητα, την αναδιόρθωση και τη λειτουργία των πρωτεϊνών, περιγράφονται και ερμηνεύονται με τους ίδιους όρους όπως οι χαλαρώσεις των (απλούστερων στη δομή) συνθετικών πολυμερών. Οι μοριακοί μηχανισμοί κίνησης του διαλύτη, που χρειάζεται να ενεργοποιηθούν για να επαχθεί η δομική χαλάρωση της πρωτεΐνης δεν είναι επακριβώς γνωστοί, εν τούτοις το κατάφλι στη θερμοκρασία και στην ενυδάτωση για τη βιολογική λειτουργία της πρωτεΐνης μπορεί να κατανοηθεί με όρους υαλώδους μετάβασης [2]. Η σχέση μεταξύ δυναμικής της πρωτεΐνης και δυναμικής του διαλύτη αποτελεί κομβικό σημείο στη μελέτη των πρωτεϊνών [2]. Η τεράστια σημασία που έχουν τα πρώτα επιφανειακά στρώματα νερού για τη βιολογική λειτουργία των πρωτεϊνών γίνεται προφανής, αν αναλογισθεί κανείς ότι στα βιολογικά κύτταρα οι πρωτεΐνες διαχωρίζονται μεταξύ τους με 2-3 στρώματα νερού [3]. Η συστηματική μελέτη της δυναμικής σε ενυδατωμένα συστήματα πρωτεϊνών μπορεί να συνεισφέρει μακροπρόθεσμα στην περιγραφή της βιολογικής λειτουργίας με όρους Φυσικής.

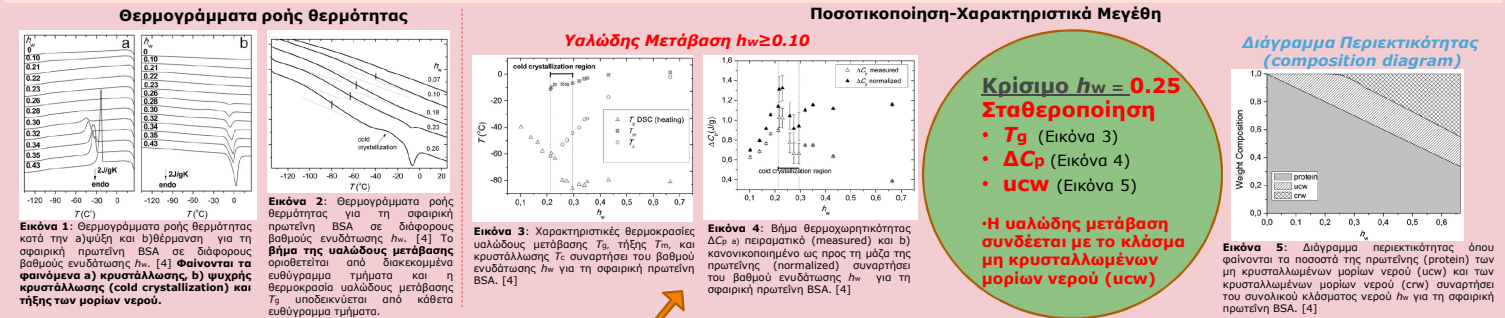
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στην παρούσα εργασία μελετώνται **συστήματα πρωτεΐνης-νερού σε μεγάλο εύρος επιπέδων ενυδάτωσης**. Η περιεκτικότητα σε νερό μεταβάλλεται συστηματικά ξεκινώντας από στερεά ξηρά δοκίμια πρωτεΐνης και αυξάνεται βαθμιαία σε ενυδατωμένα στερεά δοκίμια, πυκνά και αραιά υδατικά διαλύματα. Με αυτό τον τρόπο εισάγεται ο βαθμός ενυδάτωσης ως κύρια παράμετρος εξάρτησης των δυναμικών χαρακτηριστικών των υπό μελέτη συστημάτων. Η καταγραφή κρίσιμων ποσοτών ενυδάτωσης που σηματοδοτούν διαφοροποιήσεις στη δυναμική συμπεριφορά ή/και δομικές ανακατατάξεις αποτελεί ένα από τα ζητούμενα της παρούσας μελέτης. Τα προ μελέτη ενυδατωμένα συστήματα περιλαμβάνουν σφαιρικές και ινώδεις πρωτεΐνες. Οι πειραματικές τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν είναι κατά βάση **Θερμικές και διηλεκτρικές τεχνικές**. Εδώ παρουσιάζονται παραδείγματα για το ενυδατωμένο σύστημα της **σφαιρικής πρωτεΐνης Αλβουμίνης Βοείου Ορού (Bovine Serum Albumin, BSA)**. Ο βαθμός ενυδάτωσης υπολογίζεται ως το κλάσμα hw , (**g νερού/g ενυδατωμένης πρωτεΐνης**).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ΘΕΡΜΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ - ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΘΕΡΜΙΔΟΜΕΤΡΙΑ ΣΑΡΩΣΗΣ

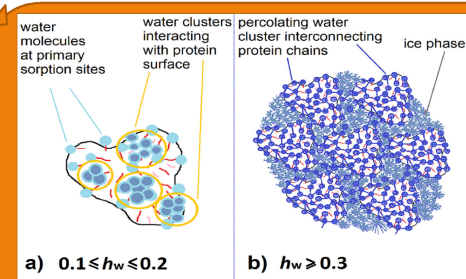
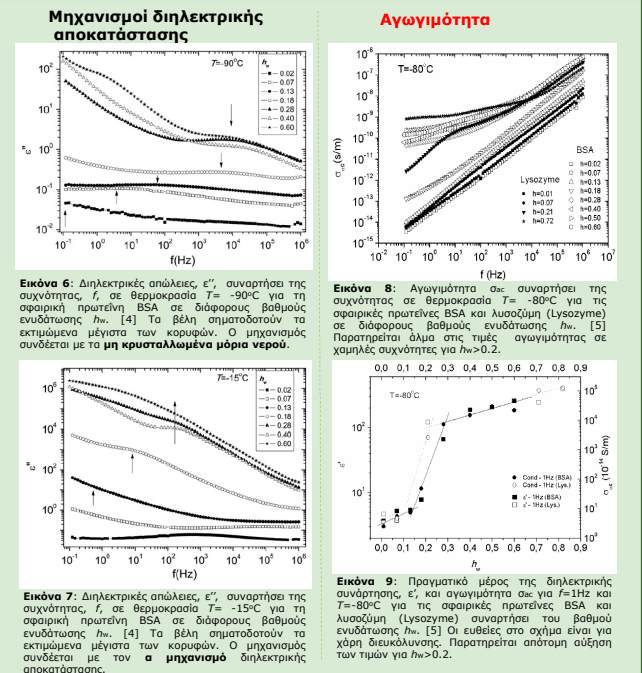
Differential Scanning Calorimetry DSC



ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ - ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

ΕΝΑΛΑΣΣΟΜΕΝΟΥ ΠΕΔΙΟΥ

Dielectric Relaxation Spectroscopy DRS



• Τα μη κρυσταλλωμένα μόρια νερού σε χαμηλά hw διεγείρουν την κίνηση μικρών πολικών ομάδων στην επιφάνεια της BSA, είτε ως μεμονωμένα μόρια νερού σε πρωταρχικές θέσεις υδάτωσης (water molecules at primary sorption sites, Εικόνα 10a) είτε ως συσσωματώματα νερού (water clusters interacting with protein surface, Εικόνα 10a). Σε μία κρίσιμη περιοχή επιπέδων υδάτωσης, $0.2 < hw < 0.3$, η επιφάνεια της πρωτεΐνης καλύπτεται σταδιακά από μη κρυσταλλωμένα μόρια νερού και δημιουργείται ένα **συνεχές επιφανειακό στρώμα νερού** (percolating water cluster interconnecting protein chains, Εικόνα 10b), με παράλληλο σχηματισμό πάγου (ice phase, Εικόνα 10b).

• Η συνδυασμένη δυναμική των μη κρυσταλλωμένων μορίων νερού με τμήματα της επιφάνειας της πρωτεΐνης αποτυπώνονται διηλεκτρικά (Σχήματα 6,7) σε συμφωνία με τη θερμοιδρομετρία.

• Η **απότομη μεταβολή** των τιμών της **αγωγιμότητας** (Σχήματα 8,9) παράλληλα με την εμφάνιση της υαλώδους μετάβασης και το σχηματισμό του συνεχούς επιφανειακού στρώματος συνδέεται με την **ενζυμική λειτουργία** των σφαιρικών πρωτεϊνών.

References

[1] H. Lodish et al., Molecular Cell Biology 5th ed., WH Freeman and Company: New York, NY, 2004.
 [2] R. B. Gregory in: R. B. Gregory (ed.), Protein-Solvent Interactions, Marcel Dekker: New York, 1995, p.191.
 [3] P. Mentre, Cell. Mol. Biol. 2001, 47, 709-715.
 [4] A. Panagopoulou, A. Kyritsis, R. Sabater i Serra, J. L. Gómez Ribelles, N. Shinyashiki, P. Pissis, *Biochim. Biophys. Acta* 1814, 1984-1996 (2011).
 [5] A. Kyritsis, A. Panagopoulou, P. Pissis, R. Sabater i Serra, J. L. Gomez Ribelles and N. Shinyashiki. *IEEE Trans. Dielect. Insul.*, 19, 1239-1246(2012).