

E14

Fotoliáz mutánsok vizsgálata ultragyors spektroszkópai módszerekkel

PIRISI KATALIN, PASITKA JONATÁN, GRAMA LÁSZLÓ, NYITRAI MIKLÓS ÉS LUKÁCS ANDRÁS

Pécsi Tudományegyetem ÁOK, Biofizikai Intézet

A fotoliázok és a kriptokrómok egyaránt a fotoaktív flavoproteinek családjához tartoznak, amelyek esetében a fehérjék funkciója fényabszorpció következtében valósul meg.

A két fehérje nagy fokú homológiát mutat, ennek ellenére a funkciójuk teljesen eltérő: a fotoliázok az UV-indukált DNS hibák javítását, a kriptokrómok viszont a cirkadián ritmus vagy a madarak mágneses tájékozódásáért felelős¹⁻³. Kiinduló hipotézisünk szerint a funkcióban megtalálható különbségért elsősorban egy aminosav a felelős, közel a fehérje által nem kovalensen kötött FAD kofaktorhoz: a kriptokrómok esetében az FAD N5 atomjával átellenben ugyanis egy aszparginsav, a fotoliázban ugyanebben a pozícióban egy aszpargin található.

Tekintettel arra, hogy növényi kriptokrómokban ebben a pozícióban egy aszpártát van, rovarokban pedig cisztein, két olyan mutánszt hoztunk létre, amelyben az említett aminosavat aszpártára illetve ciszteinre cseréltük.

Az új mutánsok transziens abszorpció, valamint transziens fluoreszcencia méréseket végeztünk a látható tartományban egy saját fejlesztésű femtoszekundumos és pikoszekundumos transziens abszorpció spektrométeren, valamint egy szintén saját fejlesztésű Kerr-kapuzott fluoreszcencia spektrométerrel⁴. A mutánsokon végzett kísérleteink arra utalnak, hogy a fotoliáz fotociklusa jelentősen megváltozott és várakozásainknak megfelelően a kriptokrómokéhoz lett hasonló. Nagy különbség mutatkozott azonban abban az esetben amikor aszpártára illetve amikor ciszteinre cseréltük az eredeti (aszpargin) aminosavat. Az előbbi esetben a fényabszorpció hatására a fotoliáz mutáns flavin kofaktora anionos gyök állapotba került⁵, a második mutáns esetében ez nem valósult meg.

Irodalom

- [1] A. Sancar, "Structure and Function of DNA Photolyase and Cryptochrome Blue-Light" *Chemical Reviews* (2003).
- [2] A. Lukacs et al., "Electron hopping through the 15 Å triple tryptophan molecular wire in DNA photolyase occurs within 30 ps.," in *Journal of the American Chemical Society* **130**(44), pp. 14394–14395
- [3] C. a Dodson, P. J. Hore, and M. I. Wallace, "A radical sense of direction: signalling and mechanism in cryptochrome magnetoreception.," *Trends Biochem. Sci.* **38**(9), 435–446, Elsevier Ltd (2013)
- [4] Laptinok S., Nuemberger P., Lukacs A., Vos M.H. Subpicosecond Kerr gated spectrofluorometry in., "Fluorescence Spectroscopy and Microscopy," Y. Engelborghs and A. J. W. G. Visser, Eds., Humana Press, Totowa, NJ (2014)
- [5] L. Grama et al., "Photochemistry of Wild Type and N378D Mutant E. coli DNA Photolyase with Oxidized FAD Cofactor Studied by Transient Absorption Spectroscopy, *CHEMPHYSICHEM*: 17:(9) pp. 1329-1340. (2016)

JEGYZETEK

HAGYAR BIOTIZIKAI TÁRSASÁG XXVI. KONFERENCIÁJA
A RENDEZVÉNY TELJES PROSPEKTUSA
ELÉRHETŐ AZ ALÁBBI WEBOLDALON:

www.mbft.hu/assets/kongresszus/mbft-2017-abstract-kongr.pdf

Alulírott polgári- és büntetőjogi felelősségem tudatában

kijelentem, hogy a másolat az eredetivel mindenben

megegyezik. 2018.05.09. *Pasitka Jonatán*