

P27

Tirozinát fluoreszcencia spektroszkópiai vizsgálata az AppA nevű fotoaktív fehérjében

KAPRONCZAI RÓBERT, PASITKA JONATÁN, KARÁDI KRISTÓF, SZEKERES GÁBOR, GRAMA LÁSZLÓ,
NYITRAI MIKLÓS ÉS LUKÁCS ANDRÁS

Pécsi Tudományegyetem ÁOK, Biofizikai Intézet

A triptofán, tekintettel arra, hogy jól detektálható a fluoreszcenciája és a legtöbb fehérjében előfordul, évtizedek óta kedvelt fluorofór a fehérjedinamikai vizsgálatok során. Intrinsic markerként nagyon népszerű azokban a spektroszkópiai vizsgálatokban, amelyek során a fehérje funkcionális dinamikáját fluoreszcencia kioltással [1], FRET-tel [2] vagy anizotrópia lecsengés segítségével [3] vizsgálják. Tekintettel arra, hogy a triptofán abszorpciós csúcsa és a szintén fluoreszcens tirozin csúcsa eltér, az esetek jelentős többségében szelektív gerjesztéssel (295 nm) el lehet kerülni a tirozin gerjesztését. A tirozin fluoreszcencia járuléka azzal is kiküszöbölhető, ha a fluoreszcencia emissziót 350 nm felett mérjük, alapesetben ebben a régióban a tirozinnek nincs jelentős járuléka, mivel a tirozin protonált alakjának az emissziós maximuma közel van a 300 nm-hez. A tirozinnek alapesetben a pK-ja 10 körül van, a mérések túlnyomó többségében tehát teljesül az, hogy az aminosav protonált alakban legyen. Az azonban, hogy ez a fehérjében is megvalósul-e ellenőrzésre szorul. A.G. Szabo még a nyolcvanas években beszámolt olyan esetekről, amelyekben a tirozin pK-ja 7 és 8 között volt. Ez azért fontos, mert a tirozin deprotonált alakjának (tirozinát) fluoreszcenciája teljesen egybevág a triptofánéval.

Az itt bemutatott munka során az AppA nevű fotoaktív fehérjén végzett vizsgálatainkról kívánunk beszámolni [4]. Az AppA esetében a tirozin pK-ja 8.5, a triptofán fluoreszcenciájának vizsgálata esetében ezzel tehát számolni kell.

Referenciák

- [1] E. Bódis, K. Raics, M. Nyitrai, Z. Majer, A. Lukács, Fluorescence lifetime distributions report on protein destabilisation in quenching experiments, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 129 (2013) 108–14.
- [2] M. Nyitrai, G. Hild, E. Bódis, A. Lukács, B. Somogyi, Flexibility of myosin-subfragment-1 in its complex with actin as revealed by fluorescence resonance energy transfer, *Eur. J. Biochem.*, 267 (2000) 4334–8.
- [3] Z. Ujfalusi, M. Kovács, N.T. Nagy, S. Barkó, G. Hild, A. Lukács, M. Nyitrai, B. Bugyi, Myosin and tropomyosin stabilize the conformation of formin-nucleated actin filaments, *J. Biol. Chem.*, 287 (2012) 31894–904.
- [4] M. Unno, R. Sano, S. Masuda, T.-A. Ono, S. Yamauchi, Light-induced structural changes in the active site of the BLUF domain in AppA by Raman spectroscopy, *J. Phys. Chem. B*, 109 (2005) 12620–6.

JEGYZETEK

HAGYAR BIOTIZIKAI TÁRSASÁG XXVI. KONFERENCIÁJA

A RENDELVÉNY TELJES PROSPEKTUSA

ELÉRHETŐ AZ ALÁBBI WEBOLDALON:

www.mbfk.hu/assets/konferencia/mbfk-2017-absztrakt-konyv.pdf

Alulírott polgári- és büntetőjogi felelősségem tudatában

kijelentem, hogy a másolat az eredetivel mindenben

meg egyezik. 2018.05.09. Pasitka Jonatán