

## Mælingar á kvikum hreyfanleika próteina með rafeindaspunataekni

*Pétur Orri Heiðarsson, Snorri Þór Sigurðsson og Bjarni Ásgeirsson*  
*Raunvísindastofnun Háskólans, Dunhaga 3, 107 Reykjavík, [bjarni@raunvis.hi.is](mailto:bjarni@raunvis.hi.is).*

Rafeindaspunataekni (EPR; electron paramagnetic resonance) var nýtt til þess að mæla kvikan hreyfanleika í hvarfstöð papains. Rafeindaspunaróf spunamerks próteins geymir upplýsingar um hreyfanleika spunamerksins og umhverfis þess. Kvikar hreyfingar spunamerksins eru samsetning þriggja megin hreyfifforma sem eru byltur próteinsins um lausnina, innri hreyfingar spunamerksins (tengjasnúningur) og innri hreyfingar í stofnkeðju próteinsins sem merkið er áfast við. Með því að takmarka byltur og gera ráð fyrir að innri hreyfingar spunamerksins séu að mestu óháðar þeim umhverfisbreytum sem eru prófaðar, er hægt að fá mælikvarða á innri hreyfingar í stofnkeðju próteinsins. Verkefnið var hugsað sem prófun á aðferðafræðinni og undirbúningur fyrir framtíðarrannsóknir á kuldaaðlögun ensíma. Spunamerkið (1-oxyl-2,2,5,5-tetramethyl- $\Delta^3$ -pyrroline-3-methyl) methanethiosulfonate (MTS) var tengt inn á Cys-25 í hvarfstöð papains með myndun tvísúlfíðbrúar.

Skoðuð voru áhrif hitastigs, seigju, afmyndara og hindra á rafeindaspunaróf papains. Hreyfanleiki spunamerksins minnkaði við lág hitastig og í 40% súkrósa eins og búist var við. Þvagefni minnkaði einnig hreyfanleika papains í styrk sem ekki dugði til að afmynda próteinið, sem kom á óvart. Það bendir til þess, að bygging hvarfstöðvarinnar sé þrengri í viðurvist þvagefnis, a.m.k. í nánasta umhverfi Cys-25, eða þvagefni víxltengi spunamerkið við próteinið, t.d. með vetnistengjum. Þvagefni hafði lítil áhrif á seigju lausnarinnar í þeim styrk sem notaður var, en virknin tapaðist að fullu. Sá styrkur þvagefnis raskaði ekki heildarbyggingu próteinsins. Binding hindrans *p*-amínóbenzamidíns hafði í för með sér minnkaðan hreyfanleika. Hindrinn bindst inn í hvarfsstöðina, þar sem spunamerkið er fyrir, og heftir líklega hreyfingar bæði spunamerks og stofnkeðju.

Niðurstöðurnar gefa vonir um að mæla megi staðbundnar hreyfingar í stofnkeðju próteina ásamt víxlverkunum við aðra hluta stórsameindarinnar með EPR aðferðum.