

A rendezetlen fehérjék és az NMR spektroszkópia

Intrinsically Disordered Proteins and NMR spectroscopy

SEBÁK Fanni¹, SZABÓ Csenge Lilla^{1,2}, ECSÉDI Péter³, Burkhard LUY⁴,
NYITRAY László³, BODOR Andrea¹

¹ELTE, Kémiai Intézet, Analitikai és BioNMR Laboratórium, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/a, andrea.bodor@ttk.elte.hu, <https://abnmr.elte.hu/index.html>;

²ELTE, Hevesy György Doktori Iskola, Budapest; ³ELTE, Biokémiai Tanszék, Budapest;

⁴KIT, Karlsruher Institut für Technologie, Karlsruhe

ABSTRACT

NMR spectroscopy has a prominent role in the *in vitro* characterization of intrinsically disordered proteins (IDP). A global characterization can be given using the translational diffusion coefficient (D), which can be determined by the basic gradient spin echo (PGSE) experiment. We established a relationship between the molecular size and the translational diffusion coefficient for globular and disordered proteins, which can be used at different temperatures, in denaturing and crowded media for bioanalytical purposes, to follow protein folding and aggregation^[1-2].

For the atomic level characterization of disordered proteins under physiological conditions, the 2D selective $H\alpha$ - Ca correlation measurement (SHACA – HSQC)^[3] was developed, which includes the previously introduced BASEREX homo- and heteronuclear decoupling scheme^[4]. Furthermore, with our new, 3D $^1H^a$ -detected selective pulse sequences, the *cis*- and *trans*-isomers of prolines frequently occurring in disordered proteins can be identified^[5-7]. With the introduction of new techniques, disordered proteins containing repetitive motifs (p53 N-terminal region, α -synuclein, EZH2)^[5-6] can be investigated, minor signals caused by *cis*-proline can be detected, and changes caused by post-translational modifications (e.g. phosphorylation) can also be monitored.

Keywords: IDP, NMR spectroscopy, $^1H^a$ -detection, PFG-NMR, Proline *cis-trans* isomerization

ÖSSZEFOGLALÓ

A stabil másodlagos, harmadlagos szerkezettel nem bíró rendezetlen fehérjék (IDP – Intrinsically Disordered Protein) *in vitro* jellemzésében kiemelt szerep jut az NMR spektroszkópiának. Globális jellemzés adható a gradiens spin echo (PGSE) alapkísérlettel meghatározható translációs diffúziós együttható (D) segítségével. Kutatásaink során a globuláris és rendezetlen fehérjék esetén kapcsolatot állítottunk fel a molekulaméret és a translációs diffúziós együttható közt, mely alkalmazható különböző hőmérsékleteken, denaturáló és zsúfolt közegekben bioanalitikai célokra, feltekeredés és aggregáció követésére^[1-2].

A rendezetlen fehérjék fiziológiai körülmények melletti atomi szintű jellemzésére megalkottuk a 2D szelektív $H\alpha$ - Ca korrelációs mérést (SHACA – HSQC)^[3], mely az adatgyűjtés alatt az általunk korábban bevezetett BASEREX homo- és heteronukleáris lecsatolást tartalmazza^[4]. A 3D $^1H^a$ -detektált új, szelektív impulzusszekvenciáinkkal a rendezetlen fehérjékben gyakran előforduló prolinok *cis*- és *transz*- izomerei azonosíthatók^[5-7]. Az új technikák bevezetésével vizsgálhatók a repetitív motívumokat tartalmazó rendezetlen fehérjék (p53, α -szinuklein, EZH2)^[5-6], detektálhatók a *cis*-prolin okozta minor jelek, illetve poszttranszlációs módosulások (például foszforiláció) okozta változások is követhetők.

Kulcsszavak: Rendezetlen fehérjék, NMR spektroszkópia, prolin *cis-transz* izoméria

- [1] EF Dudás, A Bodor, *Anal Chem* **2019**, *91*, 4929–4933; [2] CL Szabó et al. *Anal Chem* **2022**, *94*, 22, 7885–7891; [3] A Bodor et al. *Anal Chem* **2020**, *92*, 12423–12428; [4] JD Haller et al. *J Magn Reson* **2019**, *302*, 64–71; [5] F Sebák et al. *Angew Chem Int Ed Engl* **2022**, *61*, e202108361; [6] CL Szabó et al. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 6150; [7] F Sebák et al. *Front Biosci (Landmark Ed)* **2023**, *28*, 127.