

PRINCIP DOMINANTNÍHO ADHEZNÍHO MÓDU VYSVĚTLUJE PROČ PÓRÉZNÍ MATERIÁLY ZLEPŠUJÍ KRYSTALIZACI BIOLOGICKÝCH MAKROMOLEKUL

J. Hašek

Biotechnologický ústav AV ČR, Průmyslová 595, 252 50 Vestec, hasekj@seznam.cz

Od dob, kdy byla krystalizace proteinů popsána již před 180 lety v knize F. L. Hünfelda [1], bylo publikováno obrovské množství prací z nichž některé zdánlivě připomínají “mysliveckou latinu”. Paralelně s pracemi zdůrazňujícími nutnost vysoké čistoty všech složek krystalizačního roztoku existuje mnoho prací prokazatelně vykazujících pozitivní vliv “nečistost” uvnitř krystalizační kapky. Například pozitivní vliv přítomnosti fousu černého kocoura, žíně koně Huculského, kousků vhodných zeolitů [2], kousku nanopórézního skla (bioglass 45S5) na bázi hydroxyapatitu [3], uhlíkových nanotrubiček [4], kousku polymeru do kterého byly provedené otisky tvaru molekul cílového proteinu (molekulárně imprintované polymery) [5], folie s uměle zvrásněným povrchem (zvlnění povrchu vyvolané ostrým zářezem v plasmově modifikovaném elastomeru PDMS) [6], kousku slídy s chemicky modifikovaným povrchem [7], atd.

Je zřejmé, že společným rysem všech hetero-materiálů s pozitivním účinkem na krystalizaci proteinů je jejich povrchová členitost. Problém je, že experimentální pozorování jsou v těchto pracích doprovázena pokaždé jiným teoretickým zdůvodněním (např. vyšší koncentrací molekul proteinu v dutinách [7], vysoký el.potenciál na ostrých výběžcích “fraktálního povrchu” hetero-materiálu [6], atd.), což znemožňuje optimalizaci těchto materiálů. Ani nejnovější studie držící se klasického konceptu krystalizace [8] nedávají jednoznačné vysvětlení proč proteiny krystalují na hetero-materiálech lépe.

Náš princip dominantního adhezního módu respektuje fakt, že velký povrch molekul proteinu nabízí obvykle několik adhezních ploch, které umožňují několik možných způsobů shlukování molekul proteinu do klastrů. To odpovídá často pozorovanému polymorfizmu při krystalizaci proteinů. Pravidelnost (a tedy i stabilita) nově formovaných krystalizačních zárodků proto silně závisí na tom, zdali se nám podaří správným nastavením krystalizačních podmínek zamezit nejednoznačnému skládání molekul proteinu do vznikající pevné fáze.

Pokud jde o pozitivní vliv pórézních heterogenních materiálů na krystalizaci, považujeme za podstatné to, že póry s vhodnými vlastnostmi předem orientují molekuly proteinu tak, aby se molekuly skládaly do vznikajících klastrů jednoznačným způsobem. Klastry proteinů vznikající ve volném roztoku jsou méně pravidelné, méně stabilní, jsou více vystavené okolním turbulencím a mají proto pouze krátkou dobu života. Naopak v chráněném prostředí hetero-materiálu jsou tyto klustry pravidelnější a vyvíjejí se ve stabilní krystalová jádra. To nám dává možnost přípravy difrakčně kvalitnějších krystalů na povrchu heteromateriálu a možnost volit vhodnou polymorfní formu správným výběrem hetero-materiálu. Proto je použití pórézních materiálů důležité (kromě zvýšení přesnosti difrakčních metod) též pro identifikaci, které mezimolekulární interakce jsou významné pro biologickou aktivitu a které jsou z biologického hlediska méně důležité.

Naše dynamická teorie krystalizace tedy popisuje proces krystalizace proteinů jako výsledek soutěže mezi možnými adhezními módy mezi všemi molekulami účastnicími se krystalizace. Princip dominantního adhezního módu, říkající že kvalitní krystalickou fází dostaneme pouze pokud se nám podaří zajistit dominanci jediného adhezního módu mezi molekulami proteinu vhodným nastavením krystalizačních podmínek [9,10], nám tedy dává možnost racionálně ovládat krystalizační proces. V článku [11] popisujeme jak lze adhezi mezi molekulami proteinu ovládat složením krystalizačního roztoku. Zde ukážeme, že princip dominantního adhezního módu vysvětluje nekonfliktně (a na jednom společném základu) iniciaci krystalizace proteinů pomocí vhodných heterogenních objektů. Ukážeme, že náš přístup

vysvětluje všechna dostupná experimentální pozorování ve všech šesti rozsáhlých a dobře fundovaných studiích uvedených v úvodu.

Doufáme, že znalost funkce porézních materiálů při krystalizaci umožní optimalizaci současných metod krystalizace proteinů založených na metodě zkoušek a chyb systematickým skanováním tisíců krystalizačních podmínek. Cílem je nejen zvýšení účinnosti, spolehlivosti a přesnosti výsledků strukturní analýzy, ale též menší spotřeba cílového proteinu a úspora práce. To by bylo též z ekonomického hlediska přínosem vzhledem k tomu, že cena přípravy cílového proteinu často řádově převyšuje cenu zlata.

1. Hašek, J. (2006). Zeitschrift fur Kristallogr. 23, 613-619.
2. Hašek, J. (2011). J. Synchrotron Radiation, 18, 50-52.
3. Hašek, J. (2017). Materials Structure, 24, 42-43.
4. Hünefeld F.L. (1840). Chemical Properties in the Animal Organization, pp. 160-161, Brockhaus, Leipzig
5. McPherson, A. Shlichta, P. (1988). Science 239, 385-387.
6. Chayen N.E., Saridakis E., Sear R.P. (2006). PNAS, 103, 597-601.
7. Asanithi, P. et al. (2009). ACS Appl.Mater.Interfaces 1, 1203-1210.
8. Saridakis E., et al. (2011). PNAS 108, 11081-11086.
9. Ghatak A.S., Rawal G., Ghatak A. (2017). Crystals 7, 245-255.
10. Nanev, C.N. et al. (2017). Scientific Reports, 7, 35821-35828.
11. Nanev, C.N. (2018). Crystals, 8, 422-438.

Podporováno projekty BIOCEV (ERDF CZ.1.05/1.1.00/02.0109), CSF 18-10687S, RVO 86652036 a GAČR (18-10687S).