

POVZETEK

Narava je tekom evolucije uporabila le del konformacijskega prostora, ki je na voljo polipeptidnim molekulam. Z načrtovanjem sintetičnih proteinov je mogoče ta nepreizkušen prostor načrtno preiskati in v njem odkriti popolnoma nova proteinska zvitja z novimi, v naravi neopaženimi lastnostmi. Eden izmed trenutnih izzivov na področju dizajniranja proteinov je načrtovanje proteinov, ki ob spremembi okoljskih pogojev spremenijo svoje konformacijsko stanje. Konformacijske spremembe strukture proteinov v odziv na kemijski ali fizikalni signal so osnovni del številnih regulatornih, transportnih in drugih mehanizmov v bioloških sistemih. Zmožnost načrtovanja proteinov, katerih konformacijsko stanje je mogoče natančno in reverzibilno nadzorovati, bi omogočila razvoj naprednih biomaterialov ali molekularnih strojev, prirojenih za specifične aplikacije. V doktorskem delu smo z načrtovanjem vezavnih mest za kovinske ione razvili konformacijska stikala na osnovi motiva ovite vijačnice. Ovite vijačnice so pogost strukturni motiv v naravnih proteinih, z njimi pa je mogoče zgraditi tudi sintetične proteinske nanostrukture. V prvem delu smo načrtovali peptid poimenovan SwitCCh, ki je v prisotnosti Zn(II) ionov ali pri nizkem pH tvoril paralelen homodimer ovite vijačnice, drugače pa je v raztopini zavzel strukturo naključnega klobčiča. Dodatek Zn(II) ionov je povzročil tvorbo paralelnega homodimera, ob čemer se je temperaturna stabilnost peptida povišala za več kot 30 °C. Prehod med ovito vijačnico in razvitim stanjem je bil reverzibilen in ponovljiv. Peptid SwitCCh je bil ortogonalen glede na predhodno načrtovani set dimerov ovite vijačnice, kar pomeni, da bi ga bilo mogoče uporabiti kot kontrolni element za nadzorovanje zlaganja nanostruktur in materialov na osnovi ovite vijačnice. V drugem delu smo s pomočjo načrtovanja vezavnih mest za kovinske ione v predhodno načrtovani ortogonalen set razvili set Zn(II)-odzivnih ovitih vijačnic. Spektroskopija cirkularnega dikroizma in velikostno izključitvena kromatografija sklopljena s statičnim sipanjem svetlobe pri različnih kotih sta potrdili, da so se peptidi povezali v heterodimer ovite vijačnice le v prisotnosti Zn(II) ionov. Poleg tega so načrtovani peptidi delovali tudi kot pH stikala, saj so nizke vrednosti pH preprečile koordinacijo Zn(II) ionov, kar je vodilo do razvitja ovitih vijačnic. Na osnovi načrtovanega seta ovitih vijačnic smo uspeli pripraviti proteinski trikotnik, katerega zvitje je bilo pod kontrolo Zn (II) ionov. To kaže, da je načrtovani set Zn(II)-odzivnih ovitih vijačnic

mogoče uporabiti za razvoj proteinskih kletk na osnovi ovitih vijačnic, katerih zvijanje in razvijanje je mogoče enostavno nadzorovati.