

## POSZTTRANZLÁCIÓS MÓDOSULATOKAT HORDOZÓ HISZTONPEPTIDEK SZINTÉZISE ÉS DEIMINÁCIÓJUK TÖMEGSPEKTROMETRIÁS ELEMZÉSE

*Pál Domonkos*

*Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Analitikai Kémiai Tanszék, Budapest, 1117 Pázmány Péter  
stny. 1/A*

A kutatás célja poszttranszlációs módosításokat hordozó hisztonpeptideken lejátszódó deimináció (citrullináció) vizsgálata volt. A hisztonfehérjék deiminációja feltételezések szerint kulcsfontosságú szerepet tölt be a DNS szálak kromatinná való rendeződésében és a génextpresszióban. A deimináció lejátszódása során a fehérje tulajdonságai jelentősen megváltoznak, ezért a folyamat nagy hatást gyakorolhat a fehérje funkciójára. Fehérjék citrullinációját biológiai rendszerekben a kalciumfüggő PAD (peptidil arginin deimináz) enzimes család katalizálja. Az enzimes családnak jelenleg öt ismert tagja van.

Kísérleteimben a genetikai szempontból nagy jelentőségű H4 hisztonfehérje N-terminális szakaszának megfelelő oligopeptideket állítottam elő szilárdfázisú peptidszintézissel, Fmoc/tBu stratégiával. A szintézis során különböző poszttranszlációs módosításokat modellező speciális aminosavszármazékok használatával módosításokat változatos mintázatban tartalmazó peptideket állítottam elő. Munkám során összesen öt különböző variánst állítottam elő: az eredeti módosítatlan peptid mellett foszfoszerint, illetve metilezett arginint tartalmazó peptideket, valamint két további, lizin aminosavak oldalláncán acetilezett változatot. Az előállított peptideket fordított fázisú nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával (RP-HPLC) megtisztítottam, majd analitikai HPLC-vel és tömegspektrometriával (MS) jellemeztem.

A peptideket kísérleteim első szakaszában kereskedelmi forgalomban elérhető, humán rekombináns PAD4 enzimmel reagáltattam. Az enzim az irodalmi adatok alapján a sejtmagban lokalizálódik és bizonyítottan szerepet játszik hisztonfehérjék deiminációjában. Az enzimatis reakció időben történő követéséhez HPLC-MS technikát alkalmaztam. A tömegspektrometriás vizsgálatokhoz korszerű technikát, orbitrap analízátorral rendelkező műszert használtam, melynek felbontóképessége lehetővé teszi a peptidil-arginin és peptidil-citrullin tömeg szerinti egyértelmű megkülönböztetését, a köztük lévő alacsony tömegkülönbség ellenére ( $\Delta Mr = 0,984$  Da). Az enzimatis reakciót két napon keresztül követve azt tapasztaltam, hogy az alkalmazott körülmények között a PAD4 enzim nem alakította át a vizsgált modellpeptideket, illetve kontrollként használt más arginintartalmú peptideket sem. A munkám folytatásaként ezért célom a kereskedelmi forgalomban elérhető enzimek helyett az egyetemünkön előállított, ellenőrizhető minőségű PAD enzimek felhasználása. A rekombináns fehérjeszintézis optimalizálása folyamatban van.

### Köszönetnyilvánítás

A VEKOP-2.3.3-15-2017-00020 projekt keretében folyó kutatásokat az Európai Unió és Magyarország Kormánya támogatta az Európai Regionális Fejlesztési Alap hozzájárulásával. A projekt része az MTA Prémium Posztdoktori ösztöndíjjal támogatott, „Hisztonfehérjék deiminációját befolyásoló poszt-transzlációs módosulások: modellpeptidek tömegspektrometriás elemzése” című kutatómunkának (Dr. Schlosser Gitta).