

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI NANOMECHANICZNYCH WYBRANYCH PEPTYDÓW NA POZIOMIE POJEDYNCZEJ CZĄSTECZKI

Karolina Rotuska

Promotorzy: dr hab. Robert Szoszkiewicz, prof. UW¹; dr. Anna Puszek²

[1] Zakład Dydaktyczny Chemii Fizycznej; Pracownia Spektroskopii i Oddziaływań Międzycząsteczkowych
[2] Institut des Biomolécules Max Mousseron, Francja

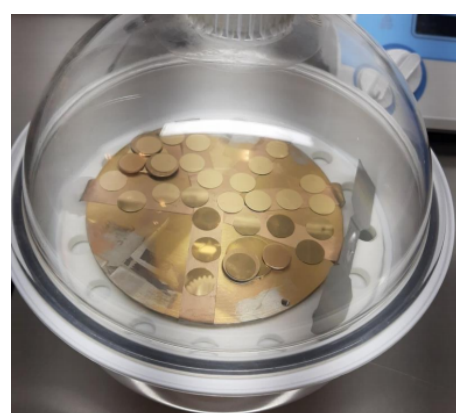
CEL PRACY

- > badania właściwości nanomechanicznych (stałej sztywności i współczynnika tłumienia energii mechanicznej) pojedynczych oligopeptydów
- > próba powiązania zmian badanych właściwości nanomechanicznych ze zmianami struktury w procesach fałdowania się oligopeptydów

PODEJŚCIE EKSPERYMENTALNE:

1. Otrzymanie peptydu KR1
2. Otrzymanie właściwego podłoża
3. Reakcja przyłączania (ang. cross-linking) peptydu KR1 do przygotowanego podłoża
4. Badania struktury peptydu przy pomocy ATR-FTIR i dichroizmu kołowego
5. Badanie właściwości nanomechanicznych peptydu za pomocą mikroskopii AFM

Na początku przeprowadzono ewaporację płytek szklanych warstwą chromu i na to ok. 50 nm (otrzymano: 5nm Cr i 60nm Au) warstwą złota w celu późniejszego łatwego przyłączenia grupy -SH z pegu do stiolowanego złota.

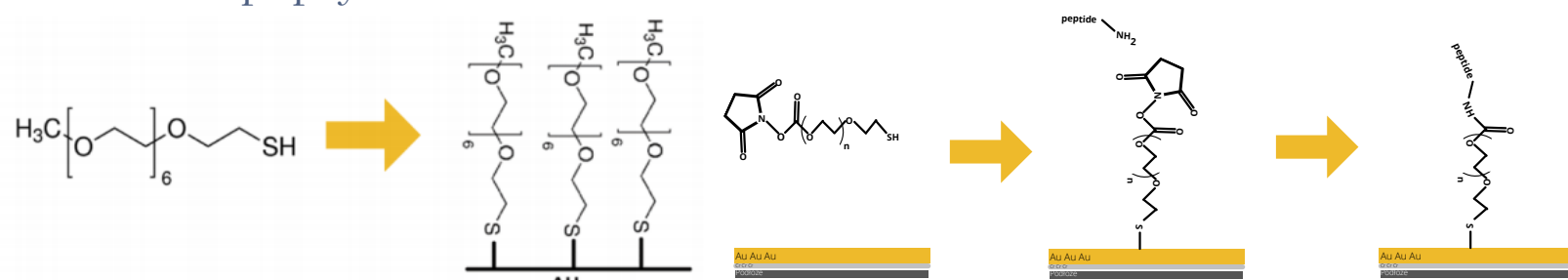


Zdjęcie 1. Próbki szklane po ewaporacji



Rys.1. Podłoże

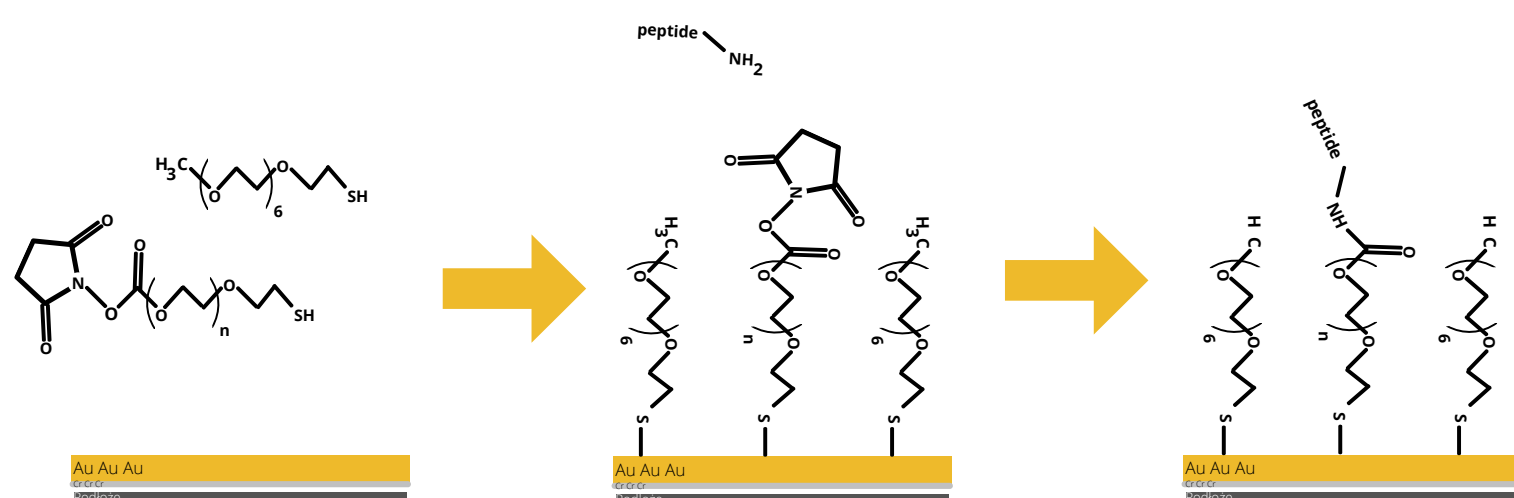
Do podłoża przyłączono związek eliminujący oddziaływania niespecyficzne między peptydem, a podłożem, oraz związek SH-PEG-NHS zakończony bursztymidem, który łączy się z grupą amidową peptydu.



Rys.2. Oczekiwana monowarstwa (SAM).

Rys.3. Przyłączanie do stiolowanego złota, PEG'u z bursztymidem na końcu. Następnie przyłączenie peptydu przez grupę amidową

Poniżej przedstawiono schemat eksperymentu, polegający na przyłączeniu do stiolowanego złota, PEG'u z bursztymidem na końcu oraz PEG'u z grupą blokującą -CH₃ zmieszanych w stosunku 1:100 cząsteczek. Następnie przyłączenie peptydu przez grupę amidową do SH-PEG-NHS.



Rys.4. Przyłączanie do stiolowanego złota, PEG'u z bursztymidem na końcu oraz PEG'u z grupą blokującą CH₃ zmieszanych w stosunku 1:100 cząsteczek. Następnie przyłączenie peptydu przez grupę amidową do SH-PEG-NHS.

DOTYCHCZAS ZREALIZOWANE BADANIA:

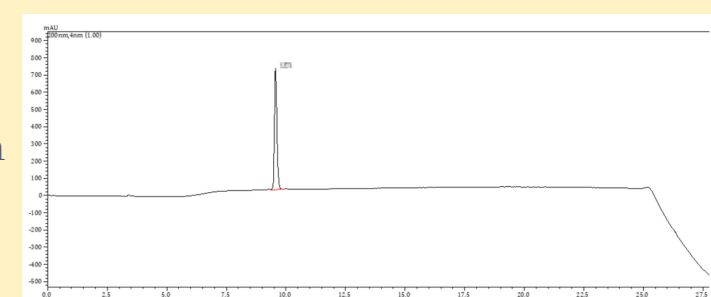
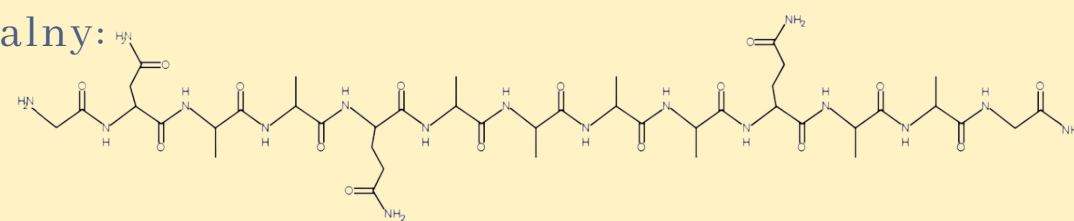
PEPTYD KR1

Zsyntetyzowano krótki α -helikalny peptyd metodą SPPS. Zdecydowano się użyć do badań peptydu ze względu na małą ilość oddziaływań wewnątrz helisy.

Symbole jednoliterowe:

GNAAQAAAAQAAG

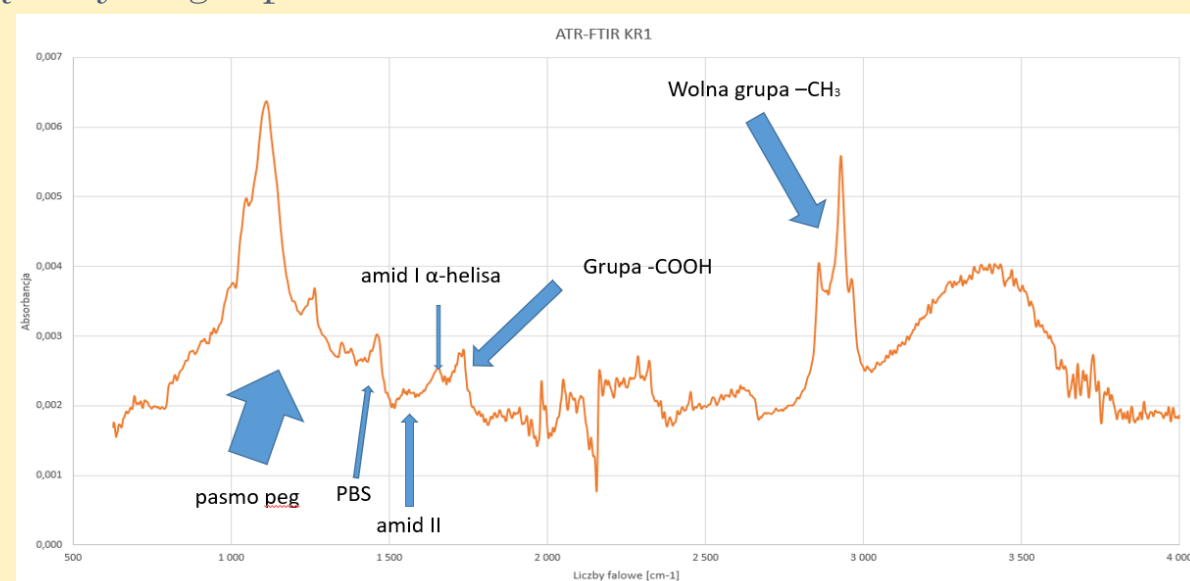
Wzór strukturalny:



Rys.6. Chromatogram HPLC zsyntetyzowanego peptydu KR1 metodą SPPS.

POMIARY ATR-FTIR

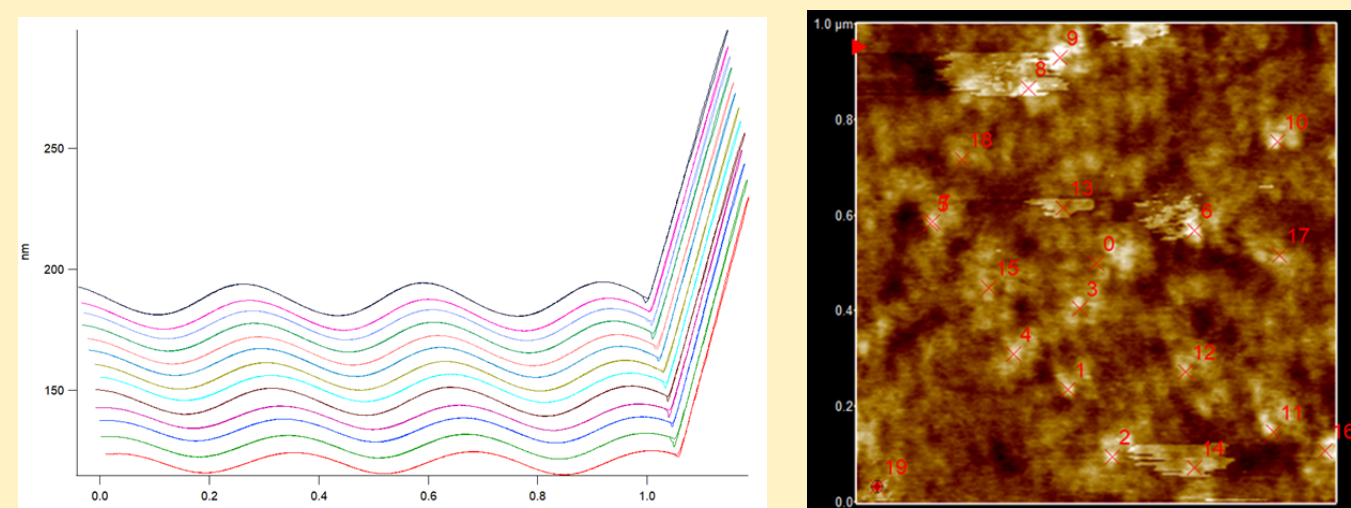
Poniżej pokazano widmo ATR-FTIR w powietrzu, dla peptydu KR1, osadzonego zgodnie z podejściem eksperymentalnym wraz z podpisanymi pasmami, które potwierdzają obecność pożądaných grup.



Rys.7. Widmo ATR-FTIR przygotowanych próbek, wraz z zaznaczonymi charakterystycznymi pasmami.

POMIARY AFM

Poniżej zaprezentowano topografie otrzymanych peptydów, osadzonych na złocie (zdjęcie 1 $\mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$) wraz z krzywymi Force-Distance. Pomiary wykonano w trybie AC Water Topography.



Rys.8. Krzywe Force-Distance wraz z obrazem topografii powierzchni próbek, na którym zaznaczono kolejno punktu wykresów. Krzywe kolejno od dołu 1-6, 8-12 oraz punkty 15 i 19. Odległość między najciemniejszym punktem (najniższym -1.530 nm) a najjaśniejszym (najwyższym 2.002 nm) na zdjęciu topografii wynosi 3.532 nm

Z nachylenia krzywych Force-Distance, będzie można odczytać sztywność, natomiast w późniejszym czasie będą kontynuowane dalsze pomiary stałej sztywności i współczynnika tłumienia.

BIBLIOGRAFIA

1. M. Amblard et al. Mol. Biotech. 2006 (33) 239-254
2. Houseman et al. Langmuir, 2003 (19) 152-1531
3. Natasa Stipanelov Vrande et al. 2010 (498) 71-80