Zakład Chemii Fizycznej i Radiochemii
Laboratorium Nowych Metod Spektroskopii NMR

# Ekspresja, oczyszczanie i przypisanie sygnałów NMR ludzkiego białka MeCP2

Patrycja Płachta

Kierownik: **dr Rafał Augustyniak**

Białko MeCP2 (Methyl-CpG-binding protein 2) odgrywa kluczową rolę w regulacji ekspresji genów poprzez wiązanie się z metylowanym i niemetylowanym DNA. Uczestniczy również w organizacji chromatyny i rozwoju układu nerwowego. Jego wysoka ekspresja w neuronach oraz znaczenie funkcjonalne sprawiają, że jest ono przedmiotem intensywnych badań biomedycznych. Mutacje w genie *MECP2* prowadzą do rozwoju zespołu Retta (RTT) – ciężkiego zaburzenia neurorozwojowego. [1,2]

MeCP2 to białko w dużej mierze pozbawione elementów struktury drugorzędowej (IDP, intrinsically disordered protein), z wyjątkiem niewielkiej domeny globularnej MBD (methyl-CpG binding domain) [3]. Ta niejednorodność strukturalna czyni jego badanie klasycznymi metodami biologii strukturalnej trudnym, a spektroskopia NMR staje się jedyną techniką umożliwiającą szczegółową analizę jego struktury i dynamiki z rozdzielczością atomową.

W prezentowanej pracy skupiono się na fragmencie białka MeCP2 obejmującym 167 pierwszych aminokwasów – nieuporządkowany region N-końcowy wraz z domeną MBD. Wybór ten umożliwia z jednej strony badanie uporządkowanej domeny wiążącej DNA, a z drugiej – analizę kontekstu jej połączenia z nieuporządkowanym odcinkiem N-końca. Fragment ten został przygotowany metodą ekspresji w systemie bakteryjnym i oczyszczony technikami chromatografii cieczowej. Otrzymano próbkę znakowaną izotopowo ($^{15}N$ i $^{13}C$), dla której zarejestrowano szereg wielowymiarowych widm NMR (2D, 3D i 5D). Na ich podstawie, przy wsparciu literatury, wykonano przypisanie sygnałów NMR do konkretnych aminokwasów.

Uzyskana lista przesunięć chemicznych umożliwia dalsze badania nad strukturą i dynamiką MeCP2 oraz stanowi punkt wyjścia do analizy oddziaływań z DNA i innymi białkami. Pozwoli również ocenić wpływ obecności nieuporządkowanych, dynamicznych rejonów białka na zdolność wiązania DNA przez globularną domenę MBD.

Literatura:
[1] Beribisky A., Steinkellner H., Geislberger S., Huber A., Sarne V., Christodoulou J., Laccone F., Protein J. 2022, 41, 345-359.
[2] Liyanage VRB., Rastegar M., Neuromolecular Med., 2018, 16(2), 231-264.
[3] Ghosh RP, Nikitina T, Horowitz-Scherer RA, Gierasch LM, Uversky VN, Hite K, Jeffrey CH., Woodlock CL., Biochem. 2010, 49(20), 4395–4410