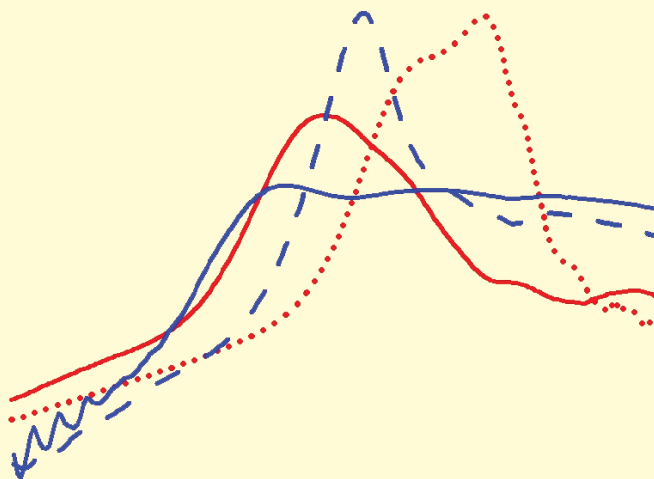


Anna Michnik

Mikrokalorymetryczne badania przemian konformacyjnych albuminy poddanej działaniu wybranych czynników fizykochemicznych



**Mikrokalorymetryczne badania
przemian konformacyjnych albuminy
poddanej działaniu
wybranych czynników fizykochemicznych**



NR 2681

Anna Michnik

**Mikrokalorymetryczne badania
przemian konformacyjnych albuminy
poddanej działaniu
wybranych czynników fizykochemicznych**



Redaktor serii: Fizyka
WŁADYSŁAW BORGIEL

Recenzenci
ANNA SUŁKOWSKA, LILIANA TRYNDA-LEMIEZ

Spis treści

Wprowadzenie	7
1. Białka: konformacja, pojemność cieplna	13
1.1. Stan konformacyjny białka	13
1.2. Pojemność cieplna białek	15
2. Albumina — struktura i funkcje	20
3. Badania DSC białek	24
3.1. Termiczne rozfałdowanie białka	24
3.2. Aspekty kinetyczne w procesie denaturacji białek — model Lumry— Eyringa	31
4. Analiza dekonwolucyjna krzywych DSC	35
4.1. Podstawy analizy dekonwolucyjnej	35
4.2. Przejścia niezależne	37
4.2.1. Model niezależnych przejść dwustanowych, uwzględniający efek- ty ΔC_p	39
4.2.2. Model niezależnych przejść dwustanowych, z wykluczeniem efek- tów ΔC_p	40
4.2.3. Model niezależnych przejść niedwustanowych	40
4.3. Przejścia sekwencyjne	41
4.4. Pojedyncze przejście dwustanowe z dysocjacją podjednostek	42
5. Proces termicznej denaturacji albuminy w roztworach wodnych	44
5.1. Charakterystyka DSC termicznej przemiany pomiędzy stanem natywnym i zdenaturowanym albuminy.	44

5.2. Specyfika termicznych przemian konformacyjnych albuminy ludzkiej i wołowej	48
5.3. Wpływ obecności kwasów tłuszczowych na charakter termicznego rozfałdowania albuminy	52
5.4. Analiza dekonwolucyjna krzywych DSC albuminy	54
6. Termiczna denaturacja albuminy surowicy w roztworach wodnych modyfikowanych wybranymi czynnikami chemicznymi	63
6.1. Przemiany BSA w roztworach o pH w zakresie 3,5—7,0	63
6.2. Proces termicznej denaturacji HSA i HSAf w roztworach wodnych etanolu	71
6.2.1. Białka w roztworach wodno-alkoholowych	71
6.2.2. Proces termicznej denaturacji HSA i HSAf w obecności etanolu	73
6.2.3. Wiązanie etanolu do albuminy	75
6.2.4. Analiza dekonwolucyjna krzywych DSC albuminy w roztworach etanol-woda	79
7. Skutki ekspozycji roztworów wodnych albuminy na wybrane zakresy promieniowania elektromagnetycznego	84
7.1. Wpływ promieniowania o częstości radiowej na trwałość konformacji albuminy wołowej.	84
7.2. Konformacyjna reorganizacja albuminy pod wpływem promieniowania UV	92
Podsumowanie	105
Dodatek	109
D I. Wiązanie kwasów tłuszczowych do albuminy	109
D II. Siły stabilizujące strukturę białka	111
D III. Wpływ środowiska na konformacyjną stabilność makromolekuły białka	114
D IV. Pomiar kalorymetryczne i spektrofotometryczne	119
D V. Analiza statystyczna wyników.	120
Literatura	121
Summary	139
Zusammenfassung.	141

Wprowadzenie

Inspiracją do badań przemian konformacyjnych białek zachodzących pod wpływem czynników fizykochemicznych jest wiele niewyjaśnionych w pełni kwestii dotyczących zależności pomiędzy zmianą natywnej struktury białek w wyniku oddziaływania ze środowiskiem a skutkami, jakie te modyfikacje niosą dla organizmów żywych. Narażenie środowiskowe jest zazwyczaj narażeniem mieszanym na wiele czynników o różnych stężeniach bądź natężeniach. Efekt końcowy jednoczesnego działania wielu czynników zależy od interakcji między nimi, a w przypadku organizmów żywych także od ich indywidualnych reakcji i odpowiedzi na bodźce środowiskowe. Prowadzenie badań *in vitro*, mających na celu poznanie wpływu każdego z czynników oddzielnie lub ich ograniczonej kombinacji nie na obiekty żywe, lecz na ich wyodrębnione składniki, nie jest w stanie zastąpić badań *in vivo*. Jedną z wielu przyczyn jest trudność wiernego odtworzenia warunków fizjologicznych, na przykład tzw. zatłoczenia molekularnego panującego w komórce, od którego w bardzo istotny sposób uzależnione są konformacje makromolekuł, aktywność enzymów i szybkość reakcji biochemicznych (MINTON, 2001, 2005; ELLIS, 2001; CHEBOTAREVA *et al.*, 2004). Na obecnym etapie wiedzy selektywne badania modelowe, mimo określonych założeń upraszczających, nadal wnoszą istotny wkład w poznanie i zrozumienie zjawisk fizycznych leżących u podłoża procesów, wywołujących określone skutki w danych warunkach środowiskowych.

Białka, podstawowe składniki każdej komórki, biorą udział w licznych procesach fizjologicznych: przenoszeniu i magazynowaniu różnych substancji, utlenianiu tkankowym, krzepnięciu krwi, procesach odpornościowych, procesach widzenia, przewodzeniu bodźców nerwowych, skurczu mięśni, dostarczaniu energii, regulacji procesów metabolicznych — stężenia jonów, ciśnienia osmotycznego. Wszystkie te funkcje wypełniają one dzięki odwracalnym zmianom specyficznej struktury przestrzennej każdego z nich.

Zdobycie wszechstronnych informacji na temat trwałości struktur białkowych jest ważne w aspekcie współczesnych badań farmaceutycznych. W ostatnich latach powstaje wiele nowych leków na bazie białek, przy czym największym problemem jest zwykle mała trwałość tych farmaceutyków. Dodatkowo procesy technologiczne prowadzące do ostatecznej formy bezpiecznego i skutecznego (aktywnego) preparatu, składają się z procedur, które mogą modyfikować białko w niepożądany sposób. Wyściowy materiał poddawany jest np. działaniu promieniowania jonizującego, UV (254 nm) czy termicznej sterylizacji w celu zniszczenia bakterii i wirusów. Te działania nie pozostają prawdopodobnie bez wpływu na strukturę i właściwości makromolekuł.

Albumina jest to białko surowicy krwi, które obficie występuje w organizmach ssaków. Pomimo tego że zarówno struktura, jak i podstawowe funkcje albuminy zostały stosunkowo dobrze poznane, nie przestaje ona być obiektem wszechstronnych badań naukowych. Wybrane, zdaniem autorki ważne w kontekście pracy, informacje na temat tego białka przedstawiono w rozdziale 2. Poznanie wpływu różnych czynników fizykochemicznych na właściwości albuminy przyczynia się do zrozumienia zaburzeń jej funkcji. Termiczne charakterystyki albuminy dostarczają cennych wskazówek w kontekście jej zastosowań praktycznych, np. w laserowym zespalaniu tkanek (BLEUSTEIN *et al.*, 2000 a, b), metodzie alternatywnej do zszywania chirurgicznego. Albuminy używa się jako „lutu” w celu poprawy konsystencji i zwiększenia wytrzymałości blizny. Termiczna pasteryzacja roztworów albuminy poprzedza ich zastosowania kliniczne (przeprowadza się ją ze względu na możliwość obecności wirusów, np. HIV, opryszczki, zapalenia wątroby).

Badania termicznej denaturacji albuminy dostarczają ważnych informacji na temat wewnątrz- i międzydomenowych oddziaływań istotnych dla stabilizacji aktywnej formy białka. Zachowanie się albuminy pod wpływem temperatury badano różnymi metodami, a najczęściej techniką dichroizmu kołowego (CD) (TAKEDA *et al.*, 1989; ARAKAWA *et al.*, 2000; WATANABE *et al.*, 2001; KRAGH-HANSEN *et al.*, 2005) i różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) (ANRAKU *et al.*, 2007; BARONE *et al.*, 1995; FARRUGGIA, PICÓ, 1999; GIANCOLA *et al.*, 1997; MICHNIK, 2003; ROSS, SHRAKE, 1988; TIKTOPULO *et al.*, 1985; YAMASAKI *et al.*, 1990, 1991, 1992).

Nowoczesna aparatura pozwala na badanie zmian zachodzących w strukturze białek na poziomie molekularnym. Uchwycenie tych zmian i powiązanie ich z funkcjami białek wzbogaca wiedzę dotyczącą prawidłowości funkcjonowania naszych organizmów, a także podłoża niektórych chorób. Zaburzenia konformacyjne białek leżą u podstaw takich chorób układu pozapiramidowego jak: choroba Parkinsona, otępienie, z ciałami Lewy’ego (ang. *Dementia with Lewy bodies* — DLB), postępujące porażenie nadjądrowe. Nieprawidłowa struktura białek ma także związek z chorobą Alzheimera i chorobą prionową BSE.

Relacje między strukturą a funkcją białek zależą silnie od oddziaływań z rozpuszczalnikiem. Problem ten jest szeroko badany od wielu lat i mimo to wciąż żywo dyskutowany. Ponieważ większość białek funkcjonuje w roztworach wodnych, znaczenie wody i zrozumienie różnych aspektów oddziaływań w środowisku wodnym jest szczególnie ważne. Aktywność białka oraz jego konformacyjna elastyczność są w dużym stopniu uwarunkowane obecnością wody. Struktura natywnych białek jest określona przez równowagę wewnątrz- i międzymolekularnych oddziaływań pomiędzy różnymi resztami aminokwasowymi oraz tymi resztami i molekułami wody otaczającymi białka. Ta równowaga określa tendencję poszczególnych reszt aminokwasowych do preferowania wnętrza lub powierzchni białka. Może być zmieniona np. przez denaturanty czy stabilizatory obecne w roztworze, jak również przez zmiany temperatury, ciśnienia, pH czy siły jonowej. Ogólna struktura białek jest wtedy osłabiana lub wzmacniana, zależnie od właściwości molekuł. Badanie tych zmian dostarcza wartościowej informacji na temat roli rozpuszczalnika w utrzymaniu konformacji natywnego białka. Krótkie omówienie oddziaływań istotnych dla stabilizacji struktury białka oraz czynników modyfikujących ją zawarto w rozdziałach D II i D III *Dodatku*.

Od dawna bada się wpływ podstawowych czynników fizycznych: temperatury i ciśnienia, na trwałość struktur białkowych. Paradoksalnie, śledzenie procesu denaturacji, a więc niszczenia struktury białka, pozwala lepiej poznać i zrozumieć oddziaływania kluczowe w procesie fałdowania białka do specyficznej dla niego konformacji oraz istotne dla stabilizacji tej struktury. Większość zagadnień dyskutowanych w tej pracy skupia się wokół termicznej denaturacji białek, a pewne aspekty denaturacji ciśnieniowej przedyskutowano w rozdziale D III *Dodatku*.

Konformacja białka może być również zmieniana pod wpływem innych czynników fizycznych, np. jonizującego promieniowania gamma (SZWEDA-LEWANDOWSKA *et al.*, 1976; FESSAS *et al.*, 1998; LEE *et al.*, 2000; LEE, SONG, 2002; CHO, SONG, 2000; CIEŚLA *et al.*, 2000). Autorzy niektórych prac zwracają uwagę, że także podczas badań krystalograficznych struktury białek promieniami X ulega ona zmianie, co powoduje różnice pomiędzy strukturami: natywną i stwierdzoną na podstawie eksperymentu dyfrakcyjnego (NAVE, 1995; CARUGO, CARUGO, 2005).

Wyniki badań mikrokalorymetrycznych prezentowane w tej pracy wykazały, że także promieniowanie elektromagnetyczne niejonizujące z zakresu UV oraz radiowego prowadzi do strukturalnych modyfikacji jednego z głównych białek osocza — albuminy (MICHNIK *et al.*, 2004 a, b, 2008).

Pomiar kalorymetryczny umożliwia bezpośrednie wyznaczenie makroskopowej wielkości termodynamicznej — entalpii badanego procesu. Ze względu na kompensację entalpowo-entropową sama wartość zmian energii swobodnej Gibbsa (entalpii swobodnej), miary konformacyjnej stabilności białka nie jest

wystarczająca do prawidłowego opisu termodynamiki przemiany. Znaczące udoskonalenie aparatury kalorymetrycznej oraz pojawienie się komercyjnie dostępnych kalorymetrów o wysokiej czułości, np. różnicowych kalorymetrów skaningowych DSC, charakteryzujących się czułością ułamka mikrowata, przyczyniło się do zastosowania metod kalorymetrycznych w badaniach przemian zachodzących w białkach pod wpływem temperatury. Dobrej jakości mikrokalorymetry umożliwiają detekcję nawet stosunkowo słabych, subtelnych zmian wywoływanych w energetyce tych przemian różnorodnymi czynnikami. Mikrokalorymetr VP DSC (MicroCal Co.), stosowany w badaniach, których wyniki prezentowane są w tej pracy, należy do klasy takich wysokoczulych kalorymetrów, przeznaczonych do badania próbek w stanie ciekłym i w szczególności bardzo dobrze nadaje się do badania roztworów białek.

Obecnie zgromadzono pokaźny materiał doświadczalny dotyczący badań termicznej denaturacji białek metodą DSC. Złożoność obserwowanych przemian, ich zależność od specyfiki badanych struktur białkowych, jak i wielu czynników doświadczalnych stanowi o atrakcyjności problematyki, a jednocześnie utrudnia porównywanie wyników uzyskiwanych przez różnych autorów. W niniejszym opracowaniu ograniczono się do zaprezentowania i przedyskutowania na podstawie dostępnych danych literaturowych zagadnień dotyczących termicznych przemian albuminy. Wiele z zawartych treści ma jednak uniwersalny charakter i ilustruje różnorodność oraz specyfikę problemów związanych z analizą procesów przebiegających w roztworach białek pod wpływem wzrostu temperatury.

Termiczne rozfałdowanie białka uważa się za przejście globalne, co oznacza, że procesowi temu w określonych warunkach ulega całość, a nie polega ono na stopniowym osłabieniu struktury ze wzrostem temperatury (JACKSON, 2006). Dla małych białek globularnych proces ich termicznej denaturacji może być często rozpatrywany jako dwustanowy, na co wskazuje zgodność entalpii kalorymetrycznej i van't Hoffa (PRIVALOV, 1979), tzn. że w temperaturach bliskich przejściu współistnieją dwa stany: natywne i rozfałdowane. W przypadku większych białek, wielodomenowych lub złożonych z kilku podjednostek, opis procesu staje się bardziej skomplikowany. Jeśli wszystkie podjednostki ulegają rozfałdowaniu równocześnie, przejście nazywane jest kooperatywnym. Kooperatywnemu rozfałdowaniu białka złożonego z n identycznych podjednostek towarzyszy efektywna zmiana entalpii na mol n -meru, czyli entalpia van't Hoffa n razy większa od entalpii rozfałdowania pojedynczej podjednostki. Entalpia van't Hoffa określa stromość przejścia: im większa kooperatywność, tym większa efektywna entalpia i przejście bardziej strome. Porównanie entalpii kalorymetrycznej i van't Hoffa dostarcza informacji na temat liczby kooperatywnych podjednostek ujawniających się podczas przejścia. Denaturację niektórych dużych białek można opisać jako sumę procesów denaturacji ich składowych domen.

Połączenie danych kalorymetrycznych z odpowiednim modelem teoretycznym pozwala uzyskać informacje na poziomie molekularnym. Celem autorki tej pracy było zaadaptowanie dostępnych modeli analizy dekonwolucyjnej danych kalorymetrycznych, opisanych w rozdziale 4, do opisu przemian konformacyjnych zachodzących w cząsteczce albuminy. Śledząc doniesienia literaturowe, można się dopatrzeć stosowania uproszczeń interpretacyjnych i niezgodności między modelami proponowanymi do opisu procesu termicznego rozfałdowania albuminy. Zostało to uwzględnione w dyskusji zagadnień przeanalizowanych w niniejszej pracy.

Ważnym celem podjętych prac badawczych było wykazanie różnic w przebiegu procesu termicznego rozfałdowania albuminy pozbawionej kwasów tłuszczowych oraz nieodtłuszczonej. Problem przyłączania kwasów tłuszczowych do albuminy był w ostatnich latach szeroko badany, co zrelacjonowano krótko w rozdziale D I *Dodatku*. Konsekwencje dowiedzionych zmian konformacyjnych albuminy, związanych z przyłączeniem kwasów tłuszczowych (CURRY *et al.*, 1998; SUGIO *et al.*, 1999; BHATTACHARYA *et al.*, 2000), nie zostały jeszcze dostatecznie poznane. W bieżącej pracy dużo uwagi poświęcono dyskusji na temat odmiennych reakcji obydwu form albuminy na działanie stosowanych czynników fizykochemicznych. Na osiągnięcie tego celu złożyło się kilka pośrednich zadań badawczych: charakterystyka termicznego rozfałdowania albuminy odtłuszczonej i zawierającej kwasy tłuszczowe w roztworach wodnych oraz w roztworach etanolu, zbadanie różnic w wiązaniu etanolu oraz porównanie wpływu promieniowania UV na różniące się zawartością kwasów tłuszczowych formy albuminy.

Aby uwiarygodnić wnioski płynące z porównania wyznaczonych parametrów termodynamicznych oraz obserwowanych tendencji ich zmian, przeprowadzono analizę statystyczną prezentowanych wyników w programie STATISTICA 7.0 (*Dodatek D V*).

Anna Michnik

Microcalorimetric study of albumin conformational changes induced by various physicochemical factors

S u m m a r y

Thermal unfolding of albumin in aqueous solutions proceeding under different physico-chemical conditions has been investigated using differential scanning calorimetry (DSC). The dependence of the observed conformational restructuring on the kind of albumin (human, bovine), its form (fatty acid free and nondefatted), the properties of solvent (water, ethanol solutions), ionic strength, pH, protein concentration and experimental conditions has been discussed in this work. The endothermic unfolding transition has been shown to be modified by time changes and changes induced by such environmental factors as radio frequency radiation or UV radiation.

Considering the process of albumin thermal unfolding within the equilibrium thermodynamics, a deconvolution of DSC traces have been performed using the appropriate mathematical models. Structurally independent subunits revealed during thermal denaturation of albumin has been found pH dependent. At pH range corresponding to the N form of albumin these subunits could be correlated with three albumin domains for human albumins and nondefatted bovine albumin. Under the same conditions two subunits have been revealed for fatty acid free bovine albumin: C-terminal fragment containing domain III and the greater part of domain II and the N-terminal fragment containing domain I and the smaller part of domain II.

DSC study of albumin in ethanol solutions has revealed stronger binding of ethanol to defatted than to nondefatted albumin. The interaction of ethanol with fatty acid binding sites located in subdomain IIA has been confirmed. Ethanol has been observed to be a stabilizer of the folded state of albumin at a lower concentration contrary to the high denaturant concentration where its binding to the unfolded protein predominates.

The obtained results indicate that the influence of radiofrequency radiation (from several to tens MHz) on albumin unfolding events could be detected using ultrasensitive microcalorimeter. That influence is not observed immediately, however, the differences between DSC profiles for irradiated and nonirradiated albumin solutions have appeared during their storage. The changes in irradiated samples outpace nonirradiated ones.

Calorimetric and spectroscopic results have shown the conformational restructuring of albumin under UV irradiation. The differences in response to UV radiation between nondefatted and fatty acid free albumins have been found. Albumin devoid of endoge-

nous fatty acids has been suggested to be more susceptible to aggregation caused by UV A—C as well as 254 nm UVC radiation. DSC curve deconvolution results allow to conclude that the *C*-terminal fragment of albumin macromolecule, containing domain III, is the most liable part to UV radiation.

The studies presented by the author have revealed the fundamental role of the presence of fatty acids for the thermal stability, conformational rearrangement and binding properties of albumin macromolecule.

Anna Michnik

**Mikrokalorimetrische Untersuchungen von Konformationsumwandlungen
des dem Einfluss von ausgewählten physikochemischen Faktoren ausgesetzten Albumins**

Z u s a m m e n f a s s u n g

Die vorliegende Arbeit beinhaltet die Ergebnisse der Untersuchungen von strukturellen Umwandlungen des Albumins unter dem Einfluss der kontrollierten Temperaturzunahme in wässrigen Lösungen. Die thermische Entfaltung der dem Einfluss von verschiedenen physikochemischen Faktoren ausgesetzten menschlichen Albumine und Rindsalbumine wurde mit Hilfe der differentialen Scanningmikrokalorimetrie (DSC) untersucht. Man diskutierte die Abhängigkeit des genannten Prozesses von der Art des Albumins (menschliches Albumin, Rindsalbumin), dessen Struktur (fettsäurereiches Albumin, entfettetes Albumin), von der modifizierten Zusammensetzung und Eigenschaften des Lösungsmittels (Wasser, wässrige Äthanollösungen), dessen Ionenkraft, pH, von Eiweißkonzentration und von den Versuchsbedingungen. Es wurde festgestellt, dass der bei thermischer Entfaltung beobachtete endotherme Übergang von DSC spiegelt die in den untersuchten Eiweißlösungen mit der Zeit und unter dem Einfluss von äußeren Umweltfaktoren eingetretenen Änderungen wider.

Die thermische Entfaltung des Albumins der Gleichgewichtsthermodynamik gemäß untersuchend analysierte man die Funktion der Überschusswärmekapazität des Eiweißkörpers mit Hilfe der entsprechenden mathematischen Modelle. Es wurden die im Prozess der thermischen Denaturierens erscheinenden, strukturellen, von pH abhängenden Untereinheiten abgetrennt. Es wurde festgestellt, dass diese Untereinheiten in wässrigen Lösungen mit den dem N-Albumin entsprechenden pH-Werten mit drei Moleküldomänen des menschlichen Albumins und des nicht entfetteten Rindsalbumins korreliert werden können. Die Entfaltung des entfetteten Rindsalbumins verläuft in den Umständen mit der Aufteilung in zwei Untereinheiten: den die III. Domäne und den größten Teil der II. Domäne umfassenden C- Endteil, und den aus der I. Domäne und dem kleineren Teil der II. Domäne gebildeten N- Endteil.

Aus der Beobachtung von thermischen Charakteristiken des Albumins in wässrigen Äthanollösungen wurde geschlossen, dass sich das Äthanol besser mit entfettetem als mit nicht entfettetem Albumin verbindet. Die Vermutungen, dass das Äthanolmolekül die Verbindungsstellen der Fettsäure in der Subdomäne IIA einnimmt, haben sich bestätigt. Man stellte folgendes fest: die Struktur des Albumins wird durch kleine

Konzentrationen des Äthanol stabilisiert und durch hohe Konzentrationen des Äthanol destabilisiert, und die Eigenschaften der Bindung des Äthanol mit Albumin hängen von der Konzentration des Äthanol ab.

Dank der Anwendung von einem hochspezialisierten und hochempfindlichen Mikrokalorimeter wurde nachgewiesen, die RF-Strahlung mit der Frequenz von einigen MHz bis ein paar Dutzenden MHz beeinflusst die thermische Umwandlungen in wässrigen Albuminlösungen. Die Folgen der Einwirkung der Exposition auf die Strahlung werden nicht sofort beobachtet. Sie bestehen in der temporalen Beschleunigung von den im Eiweißkörper ablaufenden Umwandlungen.

Auf Grund der kalorimetrischen und spektroskopischen Untersuchungen UV VIS wurde festgestellt, dass die UV-Strahlung ein solcher Faktor ist, der im Stande ist, die normale Struktur aller untersuchten Albuminarten durch Modifizierung der Eiweißkonformation sehr deutlich zu verändern und die Eiweißaggregation zu verursachen. Nachgewiesen wurden auch unterschiedliche Reaktionen des fettsäurefreien Albumins und des fettsäurereichen Albumins auf die UV-Strahlung. Das erste von ihnen war viel empfindlicher sowohl gegen die UV-Strahlung in deren vollem Bereich A-C, als auch gegen die UVC-Strahlung mit der Wellenlänge von 254 nm. Es wurde daraus geschlossen, dass die an das Makromolekül des Albumins auf natürliche Weise angeschlossenen Fettsäuren eine Schutzfunktion ausüben und die Aggregation des Eiweißkörpers verhindern. Die Anpassungsparameter von DSC-Versuchskurven in entwickelten Modellen bestätigten unterschiedliche Reaktion der Albumine mit verschiedenem Gehalt der Fettsäure auf die UVC-Strahlung. Dank den Ergebnissen der Konvolutionsanalyse konnte man zum Schluss kommen, dass der C-Endteil des Albumins mit der Domäne II. in höchstem Grade der UV-Strahlung ausgesetzt ist.

Die durchgeführten Untersuchungen haben wesentliche Unterschiede im Verlauf der thermischen Entfaltung des freien und des fettsäurereichen Albumins aufgezeigt, indem sie kleinere thermische Beständigkeit des entfetteten Albumins bestätigt haben. Die mit der Fettsäureanlagerung verbundenen Konformationsumwandlungen verursachen eine unterschiedliche Reaktion der beiden Albuminarten auf die UV-Strahlung und unterschiedliche Äthanolbindungen.

Redakcja
GRAŻYNA WOJDAŁA

Redakcja techniczna
BARBARA ARENHÖVEL

Korekta
MIROSLAWA ŻŁOBIŃSKA

Copyright © 2009
by Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego
Wszelkie prawa zastrzeżone

ISSN 0208-6336

ISBN 978-83-226-1840-0

(wersja drukowana)

ISBN 978-83-8012-866-8

(wersja elektroniczna)

Wydawca
Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego
ul. Bankowa 12B, 40-007 Katowice
www.wydawnictwo.us.edu.pl
e-mail: wydawus@us.edu.pl

Wydanie I. Ark. druk. 9,0. Ark. wyd. 9,5.
Przekazano do łamania w styczniu 2009 r.
Podpisano do druku w lutym 2009 r.
Papier offset. kl. III, 90 g Cena 15 zł (+ VAT)

Łamanie: Pracownia Składu Komputerowego
Wydawnictwa Uniwersytetu Śląskiego
Druk i oprawa: EXPOL, P. Rybiński, J. Dąbek, Spółka Jawna
ul. Brzeska 4, 87-800 Włocławek



Cena 15 zł (+VAT)

Anna Michnik

Mikrokalorymetryczne badania przemian konformacyjnych albuminy...

ISSN 0208-6336
ISBN 978-83-8012-866-8