

mgr. inż. Ewa Gapys
Wydział Chemiczny
Politechnika Łódzka

Promotor: prof. dr hab. inż. Andrzej Marcinek
Promotor pomocniczy: dr inż. Radosław Michalski

Mechanistyczne aspekty reaktywności wodoronadtlenków generowanych na aminokwasach, peptydach i białkach

Streszczenie

Białka stanowią główny składnik suchej masy organizmów żywych. Ze względu na obfitość występowania narażone są na działanie różnego rodzaju utleniaczy nieustannie produkowanych w układach biologicznych, w tym reaktywnych form tlenu. Jednym z niepożądanych produktów wspomnianych reakcji utlenienia są wodoronadtlenki aminokwasów, peptydów i białek. Procesy tworzenia grup wodoronadtlenkowych na resztach aminokwasowych białek prowadzą do zmiany ich struktury i właściwości. Ponadto indywidualnie te są niestabilne i mogą ulegać dalszym reakcjom zwiększając zakres oksydacyjnych uszkodzeń. Biorąc pod uwagę liczbę procesów i reakcji w jakie zaangażowane są grupy wodoronadtlenkowe generowane na białkach, niezwykle istotne jest opracowanie prostej i szybkiej metody ich detekcji oraz identyfikacja i charakterystyka potencjalnych zmiataczy wodoronadtlenków. Stosowane do tej pory metody detekcji wodoronadtlenków aminokwasów, peptydów i białek posiadają poważne ograniczenia.

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące detekcji wodoronadtlenków aminokwasów, peptydów i białek z wykorzystaniem profluorescencyjnych próbników boronowych. Szeroką charakterystykę przedstawiono dla próbniaka 7-boronokumarynowego (CBA), natomiast dla 3 innych próbników zbadano ich reaktywność z wodoronadtlenkiem tyrozyny, jako związkami modelowymi. Wodoronadtlenki badanych związków generowano enzymatycznie i w reakcji z tlenem singletowym, lub jak w przypadku wodoronadtlenków aminokwasów alifatycznych w wyniku reakcji L-waliny i L-leucyny z rodnikiem hydroksylowym. Wykorzystując pomiary fluorescencyjne i techniki chromatograficzne wyznaczono drugorzędowe stałe szybkości badanych reakcji. Wykorzystując próbnik CBA opracowano prostą i bezpośrednią metodę detekcji wodoronadtlenków aminokwasów, peptydów i białek.

Kolejnym etapem badań było sprawdzenie reaktywności wodoronadtlenków aminokwasów, peptydów i białek względem wybranych zmiataczy: salenowych kompleksów manganu (III) i związków selenoorganicznych (L-selenometioniny).

Salenowe kompleksy manganu (III) wykazują pozytywny efekt terapeutyczny w wielu zwierzęcych modelach chorób, którym towarzyszy stres oksydacyjny. Obserwowany efekt jest prawdopodobnie skutkiem własności zmiatających względem reaktywnych form tlenu i azotu jakie posiada ta klasa związków. Ponadto, salenowe kompleksy Mn(III), które usuwają H_2O_2 w sposób katalityczny, prawdopodobnie mogą usuwać również inne wodoronadtlenki organiczne, w tym wodoronadtlenki aminokwasów, peptydów i białek, których powstawanie w układach biologicznych w wyniku działania stresu oksydacyjnego jest postulowane. Wykorzystując metodę reakcji konkurencyjnych i próbnik CBA jako związek odniesienia zbadana została reaktywność wodoronadtlenków L-tyrozyny, L-tryptofanu i L-histydyny względem wybranych salenowych kompleksów manganu (III). Przeanalizowano wpływ struktury salenów na ich reaktywność z wodoronadtlenkami jak również sprawdzono i potwierdzono aktywność katalityczną salenowych kompleksów manganu (III) względem wodoronadtlenku L-tryptofanu. Potwierdzona została również reaktywność salenowych kompleksów manganu (III) względem grup wodoronadtlenkowych generowanych na białkach modelowych BSA i lizozymie oraz w makrofagach RAW 264.7.

Wyznaczone zostały także drugorzędowe stałe szybkości reakcji wodoronadtlenków aminokwasów i peptydów z L-selenometionią, potwierdzając tym samym, że związek ten jest zdolny do usuwania wodoronadtlenków aminokwasów.

5.04.2018

Ewa Gąpys