

Badania kompleksów wybranych hemoprotein i ich przemian w układach biologicznych metodami spektroskopii molekularnej

Hemoproteiny tworzą grupę białek, których grupą prostetyczną jest **hem**, połączenie **kationu żelaza** (Fe^{II}) i **porfiryny** (protoporfiryny IX). Najbardziej rozpowszechnioną z hemoprotein jest **hemoglobina** (Hb), białko występujące w erytrocytach, pełniące funkcję transportera gazów oddechowych (O_2 i CO_2) oraz biorące udział w utrzymaniu regulacji kwasowo-zasadowej. Obok Hb najważniejszymi przykładami hemoprotein są **mioglobina** (Mb), występująca w mięśniach jako magazyn O_2 , oraz **cytochrom c**, transporter elektronów w łańcuchu oddechowym zachodzącym w mitochondriach. Różnice w pełnionych funkcjach pomiędzy wymienionymi wyżej hemoproteinami znajdują swoje odzwierciedlenie w ich budowie. Zarówno w cząsteczkach Hb jak i Mb grupę prostetyczną stanowi **hem b**. W odróżnieniu jednak do Hb, **której białkowa część złożona jest z czterech podjednostek, mioglobina zbudowana jest tylko z jednej**. Przekłada się to na wyższe powinowactwo tlenu do Mb¹ co jest zrozumiałe ze względu na pełnioną funkcję – jako magazyn dla tlenu, Mb musi chętniej wiązać, a trudniej odłączać O_2 niż dostarczająca go Hb. Cytochrom c jest najmniejszym białkiem wśród opisywanych hemoprotein o znikomym powinowactwie do O_2 , którego łańcuch polipeptydowy jest połączony z **hemem c** za pośrednictwem dwóch mostków tioeterowych, co stanowi znaczącą różnicę w porównaniu do Mb i Hb, gdzie hem b związany jest z globiną wiązaniem koordynacyjnym poprzez kation żelaza. Cechą wspólną opisywanych hemoprotein jest obecność centralnie ulokowanego **jonu żelaza o sześciu miejscach koordynacyjnych**. Pięć z nich, jest najczęściej zajętych przez wiązania Fe z atomami azotu (cztery pochodzące od pierścieni pirolowych a jedno od azotu imidazolowego pierścienia histydyny). Ostatnie, szóste miejsce koordynacyjne, pozostaje wolne, i w zależności od hemoproteiny może stać się miejscem związania różnego podstawnika – O_2 , CO, NO, histydyny lub innego aminokwasu, tworząc **kompleks hemoproteiny**.

W ramach przygotowywanej rozprawy doktorskiej podjęto **badania kompleksów hemoprotein metodami spektroskopii molekularnej** w układach biologicznych *ex vivo* oraz *in vitro*. Jako układy badawcze postawiono przede wszystkim na komórki – **izolowane erythrocyty** mysie i ludzkie, mysie **komórki Kupffera** i **makrofagi** oraz tkanki – mysie **tkanki serca, mózgu i inne**. Wśród metod badawczych najwięcej uwagi poświęcono **spektroskopii ramanowskiej**, która dzięki rezonansowemu wzmocnieniu sygnału od porfiryn jest potężnym narzędziem do interpretacji struktury molekularnej tych związków. Uzupełnienie palety spektroskopii molekularnej stanowią **spektroskopia absorpcyjna UV-Vis**, **spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego** oraz **spektroskopia mössbauerowska**. Jako metody uzupełniające zastosowano szereg technik biochemicznych takich jak **gazometria, badania morfologii, barwienia histologiczne oraz cytometria przepływowa**.

Najważniejszym celem badań prowadzonych podczas przygotowania rozprawy doktorskiej jest zatem **analiza strukturalna, jakościowa i przestrzenna wybranych hemoprotein, ich przemian i kompleksów w układach biologicznych**.

