

Miedź jest podstawowym pierwiastkiem śladowym w ludzkim ciele. Jej głównym zadaniem jest dostarczenie enzymom mitochondrialnym odpowiednich narzędzi chemicznych by wykorzystać energię powstałą w wyniku reakcji tlenu z glukozą i innymi substancjami w procesie zwanym fosforylacją oksydacyjną. Ten proces uwalnia śladowe ilości wysoko toksycznych reaktywnych form tlenu (ROS). Zatem kolejną funkcją miedzi jest obrona ciała przed ROS i przekształcenie go w mniej toksyczne substancje, również za pośrednictwem konkretnych enzymów. Inne enzymy miedziowe pomagają w utrzymaniu neurotransmisji czy też w dostarczaniu pigmentacji skóry w kontrolowanych procesach oksydacyjnych. We wszystkich tych reakcjach zadaniem miedzi wykorzystanie jej zdolności do przenoszenia elektronów, czyli możliwości zmiany stanu utlenienia między Cu(II) a Cu(I). Lecz miedź jest sama w sobie toksyczna, gdyż jej związki mogą generować ROS katalitycznie, za pomocą tej samej pary redoks Cu(II)/Cu(I), co w enzymach. Żeby zapobiec tej toksyczności, organizmy wykształciły na drodze ewolucji sposoby radzenia sobie z miedzią w bezpiecznej, niereaktywnej formie. Jony miedzi są dostarczane do komórek i transportowane wewnątrz nich przez zestaw przypisanych im białek transportowych i opiekuńczych, jako względnie niereaktywne jony Cu(I), dopóki nie zostaną przekazane do odpowiednich enzymów. Niestety taki mechanizm nie jest możliwy we krwi i innych płynach ustrojowych, przez które miedź musi się przedostać z pokarmu w jelitach do wnętrza komórek. Ilość tlenu w krwi jest wysoka, a kompleksy Cu(I) są łatwo uszkodzane przez utlenianie. Tak więc potrzebny jest inny sposób transportu, oparty na Cu(II), która jest trwała w warunkach natlenienia. Ten sposób jest dużo mniej poznany w porównaniu do tego wewnątrzkomórkowego.

Albumina osocza krwi (HSA), uniwersalny transporter białek w ludzkiej krwi jest uznawany za główny czynnik w transporcie miedzi w tych płynach. Sposób, w jaki dostarcza miedź do hCtr1, białka odpowiedzialnego za przyswajanie tego pierwiastka przez komórki, pozostaje nieokreślony. hCtr1 może tylko przenosić jony Cu(I) przez błonę komórkową, więc zewnątrzkomórkowe jony Cu(II) muszą zostać zredukowane przed transferem. Dotychczas zbadane bezpośrednie reakcje wymiany miedzi z HSA do hCtr1 wydają się być zbyt wolne dla wymagań fizjologicznych, a miejsca redukcji miedzi i jej mechanizm pozostają nieznanne.

**Chcemy zrozumieć te procesy, ponieważ przybywa dowodów na ich powiązania z procesami patologicznymi zachodzącymi w chorobach nowotworowych, cukrzycy i chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimer'a. Aby to osiągnąć, pragniemy zbadać chemiczne reguły leżące u podstawy fizjologii miedzi, gdyż tylko szczegółowa wiedza na poziomie cząsteczkowym pozwoli stworzyć i stosować remedia, takie jak nowoczesne leki i zmiany stylu życia.**

Na podstawie serii opublikowanych i wstępnych nieopublikowanych badań, wykonanych przez naszą grupę badawczą uważamy, że faktyczne mechanizmy wymiany i redukcji wymagają uczestnictwa kolejnych cząsteczek oprócz HSA, innych transporterów miedzi w krwi i białka receptorowego hCtr1. Jednym z ważnych celów tego projektu jest identyfikacja tych cząsteczek na podstawie ich właściwości chemicznych. Zamierzamy rozpocząć nasze badania od gruntownego prześledzenia stopnia powiązań i rozbieżności między kompleksami Cu(II) i peptydami, będących prostszymi modelami białek zarządzających miedzią, żeby wyprowadzić z nich mechanizmy reakcji. Następnie przebadamy różne typy cząsteczek, które uważamy za zdolne do wsparcia procesu wymiany Cu(II) poprzez wchodzenie w interakcje z kompleksami uwalniającymi Cu(II). Po uzyskaniu wystarczającej wiedzy, przeprowadzimy eksperymenty z HSA, żeby określić, które z obecnych fizjologicznie w ludzkiej krwi cząsteczek mogą brać udział w transporcie miedzi. Kolejnym celem projektu jest identyfikacja cząsteczek, które biorą udział w redukcji Cu(II) do Cu(I) bez wytworzenia ROS. W końcowym etapie projektu użyjemy specjalnej aparatury za pomocą której cząsteczki białka hCtr1 zostaną umieszczone w bardzo małych fragmentach błon biologicznych, i zmierzmy przepływ przez nie prądu elektrycznego w formie jonów Cu<sup>+</sup>. W ten sposób otrzymamy najpełniejszy jak dotąd opis tego procesu, żeby dostarczyć opinii publicznej propozycję cząsteczkowych mechanizmów transportu miedzi w ludzkiej krwi, zdalnych do weryfikacji w dalszych testach biologicznych.

Większa część prac zostanie wykonana w laboratoriach w IBB PAN, lecz niektóre kluczowe aspekty badań wymagają polskiej i międzynarodowej współpracy. Większość peptydów, których użyjemy w naszym badaniu i oba białka, HSA i hCtr1, zsyntetyzujemy sami, lecz modele peptydowe domeny hCtr1 wymagane do niektórych testów będą dostarczone przez współpracujące z nami grupy w USA i Francji. Reakcje dysocjacji zostaną przebadane w IBB PAN za pomocą wielu technik spektroskopowych, ale zbadanie najszybszych reakcji wymaga specjalnie skonstruowanego wyposażenia, którego nie jest dostępne komercyjnie. Takie wyposażenie zostanie nam udostępnione przez współpracującą z nami grupę z Holandii. Elektrochemiczne badania utleniania i redukcji miedzi będą przeprowadzone w Politechnice Warszawskiej, a badania funkcjonalne wyizolowanego hCtr1 przedstawione powyżej będą początkowo przeprowadzone w Szkocji. Potem podobna aparatura zostanie zainstalowana w Warszawie, a eksperymenty będą wykonywane równolegle w obu laboratoriach.