

mgr Agnieszka Anna Rodzik

Rozprawa doktorska

*Badanie mechanizmów tworzenia nanokompozytów metal-białko
jako potencjalnych środków przeciwdrobnoustrojowych*

Streszczenie

W niniejszej rozprawie doktorskiej przeprowadzona została immobilizacja jonów cynku i srebra do białka serwatkowego (β -laktoglobuliny) oraz jonów cynku do poszczególnych frakcji kazeinowych (α_{S1} -, β -, κ -CN). Zbadane zostały mechanizmy wiązania i zdolności sorpcyjne białek (biokoloidów) za pomocą badań kinetycznych i izotermicznych oraz metod modelowania/dokowania molekularnego i obliczeń kwantowych. Otrzymane nanokompozyty poddane zostały fizykochemicznej charakterystyce za pomocą całego spektrum technik instrumentalnych takich jak metody spektrometryczne, spektroskopowe, mikroskopowe oraz dyfrakcyjne, które wzajemnie się uzupełniały. Kolejnym aspektem prowadzonych badań z uwagi na pojawiający się problem lekooporności oraz poszukiwanie nowych antyseptyków, wykonane zostały badania aplikacyjne określające potencjał przeciwdrobnoustrojowy syntetyzowanych nanokompozytów. Zwieńczeniem badań i niezwykle istotną kwestią podjętą w rozprawie doktorskiej było wykorzystanie modelu zwierzęcego (myszy) celem określenia wpływu uzyskanych nanokompozytów na proces gojenia się ran jak również dystrybucję cynku i srebra w narządach (wątroba, krew).

Wstępny etap badań polegał na scharakteryzowaniu białek biorących udział w procesie wiązania za pomocą metody MALDI-TOF MS oraz wyznaczeniu ich punktów izoelektrycznych poprzez pomiar potencjału zeta i określeniu ich stabilności. Porównane zostały również wyniki metod proteomicznych opartych na klasycznym trawieniu białek w roztworze z przepływowym mikroreaktorem enzymatycznym przy zastosowaniu końcówek pipety ZipTip. Następnie przeprowadzono syntezę jonów metali z badanymi białkami przeprowadzając klasyczne badania kinetyczne i izotermiczne, które pozwoliły zrozumieć skomplikowane i wieloetapowe mechanizmy powstawania kompleksów. Otrzymane dane eksperymentalne porównano z wybranymi modelami kinetycznymi (zerowego-, pierwszego-, pseudo-pierwszego-, pseudo drugiego-rzędu, modelem wewnątrzcząsteczkowej dyfuzji Webera-Morrisa) oraz modelami izotermicznymi (Henry'ego, Freundlicha, Langmuira). Cała gama technik instrumentalnych wykazująca dużą komplementarność między sobą pozwoliła na identyfikację powierzchniowych grup funkcyjnych białek uczestniczących

w procesie wiązania, określenie morfologii powierzchni i stabilności, również z naciskiem na wpływ stężenia metalu. Ważnym etapem pracy była konfrontacja wyników eksperymentalnych z modelowaniem/dokowaniem molekularnym oraz obliczeniami kwantowo-mechanicznymi. Uzyskana wysoka zgodność między wynikami eksperymentalnymi oraz teoretycznymi pozwoliła stwierdzić, iż w przypadku oddziaływań jonów cynku z białkami mamy do czynienia tylko i wyłącznie z układami typu metalokompleks. Z kolei w przypadku oddziaływań jonów srebra z β LG tworzy się układ hybrydowy – metalokompleks wraz z tworzeniem się nanocząstek srebra ($\text{Ag}\beta\text{LG}/\text{AgNPs}\beta\text{LG}$). Ponadto, wykazano działanie przeciwdrobnoustrojowe nanokompozytów $\text{Zn}/\text{Ag}\beta\text{LG}$, $\text{Zn}\alpha_5\text{I}\text{CN}$, $\text{Zn}\beta\text{CN}$, $\text{Zn}\kappa\text{CN}$ wobec patogenów o znaczeniu klinicznym. Przeprowadzone badania aplikacyjne *in vivo* na modelu zwierzęcym (myszy) wskazują na obserwowalny wzrost masy ciała gryzoni po dziesięciodniowych obserwacjach, stopniową regenerację organizmu zwierząt, pojawienie się strupa oraz odrastające włosy. W pracy wykazano, iż oddziaływania typu metal-białko o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych mogą przyczynić się do rozwiązania problemu lekooporności oraz stać się potencjalnym kandydatem jako preparat stosowany do leczenia trudno gojących się ran.