

Streszczenie

W niniejszej pracy przeprowadzono dobór warunków syntezy kompleksów i nanokompozytów laktoferyny z jonami d-metali o znaczeniu biologicznym, mianowicie jonami srebra, żelaza(III) oraz cynku. Zbadano wpływ różnych czynników na skuteczność adsorpcji jonów metali na białku. Między innymi, określono wpływ pH oraz stężenia jonów metali na właściwości uzyskanych biologicznie aktywnych substancji. Otrzymane układy scharakteryzowano pod względem właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych. Do tych celów użyto metody mikroskopii elektronowej, spektrometrii mas, spektroskopii oraz sprzężone metody rozdzielania. Określona została także stabilność kompleksów w buforach imitujących warunki układu pokarmowego. Możliwość wykorzystania kompleksów jako aktywnych substancji w preparatach leczniczych lub suplementów diety została również przebadana za pomocą metod mikrobiologicznych oraz cytotoxyczości *in vitro*. Stwierdzono wysoki potencjał aplikacyjny zaproponowanych metod syntezy kompleksów metal-LTF. Na koniec została podjęta próba określenia rzeczywistego mechanizmu oddziaływania metali z białkami na przykładzie wiązania się Zn^{2+} na laktoferynie ludzkiej poprzez zastosowanie metod obliczeniowych dynamiki molekularnej oraz teorii funkcjonału gęstości.

Wstępny etap badań obejmował charakteryzację modelowych białek, tzn. laktoferyny bydłowej oraz rekombinowanej laktoferyny ludzkiej. Określona została masa molekularna, punkt izoelektryczny oraz zawartość jonów żelaza(III) oraz cynku, co jest niezmiernie ważne do określenia procesów zachodzących podczas oddziaływania jonów metali z białkami oraz stechiometrii reakcji. W kolejnym etapie dokonano opisu natury procesu z wykorzystaniem klasycznych badań adsorpcji. Kolejny ważny etap pracy stanowił uzupełnienie danych adsorpcji o wyniki metod spektroskopowych oraz mikroskopii elektronowej. Wyniki mikroskopii elektronowej wskazały na powstanie homogennych kompleksów żelaza i cynku oraz nanokompozytu srebra z laktoferyną. Dla ostatniego wykazano zależność rozmiaru nanocząstek od stężenia jonów srebra w roztworze. Ponadto, wykazano korelację pomiędzy kształtem izotermy adsorpcji oraz rozmiarem i ilością inkluzji metalicznych w nanokompozycie. Badania spektroskopowe wykazały udział poszczególnych grup funkcyjnych w wiązaniu jonów metali, gdzie największy udział dla wszystkich przebadanych metali miały grupy karboksylowe kwasów glutaminowego i asparaginowego. Wykazano także udział grup funkcyjnych innych aminokwasów - histydyny, tryptofanu, seryny, tyrozyny oraz treoniny. Stwierdzono także, że wiązanie jonów metali do białka indukuje zmiany w jego strukturze i pojawienie się nowych miejsc wiążących z jednoczesną zmianą w zdolności wiązania jonów żelaza. Dobra zgodność

wyników eksperymentalnych i teoretycznych pozwoliła na zaproponowanie mechanizmu oddziaływania cynku z laktoferyną. Dodatkowo, udało się określić każdy poszczególne etap zachodzących w czasie oddziaływania zmian.

8.03.2023 Aleksandra Pyskhejko