

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ

НАСТАВНО-НАУЧНО ВЕЋЕ

Предмет: Образложење предлога теме докторске дисертације

Молим Наставно-Научно веће Универзитета у Београду – Хемијског факултета да одобри изразу докторске дисертације под насловом:

„Утицај јона Pb(II), Cd(II) и Pd(II) на конформационе прелазе овалбумина”

1. Научна област: Биохемија

2. Предмет научног истраживања

Предмет истраживања ове докторске дисертације је утицај присуства слободних јона метала олова (Pb(II)) и кадмијума (Cd(II)), као и органометалних комплекса паладијума (Pd(II)), олова (Pb(II)) и кадмијума (Cd(II)) на конформационе прелазе овалбумина као модел система. Истраживање у оквиру ове тезе чиниће две целине.

Први корак ће обухватати припрему узорака, тј. изоловање и пречишћавање модел система овалбумина. Пречишћени овалбумин ће потом бити инкубиран у присуству различитих концентрација јона метала или органометалних комплекса, под различитим условима – температура, рН вредност, присуство денатуришућих агенаса.

У оквиру другог дела истраживања биће изведена структурна анализа добијених метал-протеин асоцијација. Конкретно, биће испитан ефекат фактора који утичу на не-специфичне интеракције присутних јона, њихове координације за овалбумин, и свеукупан значај ових интеракција у медицини и исхрани.

3. Основе хипотезе

Протеини често подлежу различитим конформационим променама, при чему долази до губитка њихове целокупне нативне структуре.¹ Степен ових конформационих промена зависи од разних фактора при којима је нативни протеин

изложен, попут рН вредности, промена у температури, и присуства денатуришућих агенаса.^{1,2}

Разумевање конкретног утицаја ових фактора на конформационе промене протеина омогућава предвиђање потенцијално позитивних или негативних ефеката које ови фактори могу изазвати. На пример, у исхрани се формирање протеинских агрегата генерално сматра као позитивна појава услед њиховог утицаја на техно-функционална својства прехранбених производа.³ Присуство оваквих агрегата доприноси структурној стабилности прехранбених производа, и има позитиван ефекат на гелирање и емулзификацију.⁴ Међутим, присуство виших концентрација одређених протеинских агрегата, попут изузетно стабилних амилоидних фибрила, је такође корелисано са развојем различитих неуродегенеративних обољења. Формирање и развој амилоидних фибрила је основа за пропагацију и цитотоксичност прионских болести, и примећено је у Алцхајмеровој⁵, Хантингтоновој⁶, и Паркинсоновој болести⁷, као и у многим системским амилоидозама⁸. У већини ових обољења су у нервним ткивима пацијената пронађени амилоидни фибрили у виду плакова, заједно са повишеним концентрацијама јона метала попут кадмијума и олова.^{5,8} Услед овога се верује да присуство ових јона позитивно утиче на развој многих неуродегенеративних болести.

Међутим, цитотоксична активност која је изазвана интеракцијом јона метала или њихових комплекса са протеинима може бити и од користи у медицини. У скорије време, комплекси јона платине и паладијума су коришћени као антиканцерска средства и представљају потенцијално нови и ефикасан начин у лечењу различитих варијанти канцера.^{9,10} Познавање интеракција, координације, и реактивности одређених органометалних комплекса према модел протеинима омогућава ефикаснији развој третмана и лекова.

4. Циљеви истраживања и очекивани резултати

Циљеви истраживања су:

- 1) *Првобитно изоловање и пречишћавање овалбумина из кокошијих јаја, применом биохемијских метода познатих у литератури.*
- 2) *Комбинација екстракта овалбумина и извесних јона метала, при различитим условима попут рН вредности, температуре, концентрације денатуришућих агенаса и самих јона метала и органометалних комплекса.*
- 3) *Структурна анализа добијених метал-протеин асоцијација, која омогућава потенцијално предвиђање будућих не-специфичних интеракција јона метала и њихових комплекса.*

5. Методе истраживања

Током истраживања, примениће се стандардне биохемијске лабораторијске технике за пречишћавање протеина. Накнадно ће добијени екстракт овалбумин бити помешан са различитим концентрацијама јона олова Pb(II), кадмијума Cd(II), као и њихових органометалних комплекса (Pb(II), Cd(II), и Pd(II)), при различитим рН вредностима. Добијени узорци ће потом бити инкубирани при различитим температурама, у периодима од 24 до 72 h. Концентрација узорака ће бити праћена применом Брадфордовога есеја, а чистоћа ће бити праћена применом натријум-додецил-сулфат-полиакриламидне гел електрофорезе (SDS-PAGE).

Добијени производи биће структурно окарактерисани спектрофлуориметријским анализом протеинских интеракција са 8-анилиннафтален-1-сулфонском киселином (ANS) и Тиофлавином-Т (ThT), што ће пружати увид у степен хидрофобних интеракција и нивоа формирања амилоидних фибрила. Промене секундарних структура протеина ће бити праћене применом инфрацрвене спектроскопије (ATR FTIR), док ће крајње структуре бити посматране микроскопијом атомских сила (AFM).

Моделовање протеинских агрегата и координација јона метала и њихових комплекса, као и детекција амилоидогених пептида у оквиру аминокиселинске секвенце овалбумина, ће бити одређена применом различитих софтверских пакета. Величина протеинских агрегата, као и њихов електрокинетички потенцијал, биће одређени методом динамичког расејавања светлости (DLS). Липофилност, растворљивост, фармакокинетика, и друга физичко-хемијска својства комплекса ће бити одређена применом SwissADME софтвера.

6. Литература

1. Janković, B.G. and Polović, N.Đ., 2017. The protein folding problem. *Biologia Serbica*, 39(1).
2. Owen, M.C., Gnutt, D., Gao, M., Wärmländer, S.K., Jarvet, J., Gräslund, A., Winter, R., Ebbinghaus, S. and Strodel, B., 2019. Effects of in vivo conditions on amyloid aggregation. *Chemical Society Reviews*, 48(14), pp.3946-3996.
3. Jansens, K.J., Brijs, K., Delcour, J.A. and Scanlon, M.G., 2016. Amyloid-like aggregation of ovalbumin: Effect of disulfide reduction and other egg white proteins. *Food Hydrocolloids*, 61, pp.914-922.
4. Foegeding, E.A. and Davis, J.P., 2011. Food protein functionality: A comprehensive approach. *Food hydrocolloids*, 25(8), pp.1853-1864.

5. Harper, J.D. and Lansbury Jr, P.T., 1997. Models of amyloid seeding in Alzheimer's disease and scrapie: mechanistic truths and physiological consequences of the time-dependent solubility of amyloid proteins. *Annual review of biochemistry*, 66(1), pp.385-407.
6. McGowan, D.P., van Roon-Mom, W., Holloway, H., Bates, G.P., Mangiarini, L., Cooper, G.J.S., Faull, R.L.M. and Snell, R.G., 2000. Amyloid-like inclusions in Huntington's disease. *Neuroscience*, 100(4), pp.677-680.
7. Petrou, M., Dwamena, B.A., Foerster, B.R., MacEachern, M.P., Bohnen, N.I., Müller, M.L., Albin, R.L. and Frey, K.A., 2015. Amyloid deposition in Parkinson's disease and cognitive impairment: a systematic review. *Movement Disorders*, 30(7), pp.928-935.
8. Merlini, G. and Bellotti, V., 2003. Molecular mechanisms of amyloidosis. *New England Journal of Medicine*, 349(6), pp.583-596.
9. Cheff, D.M. and Hall, M.D., 2017. A drug of such damned nature. 1 challenges and opportunities in translational platinum drug research: miniperspective. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(11), pp.4517-4532.
10. Alam, M.N. and Huq, F., 2016. Comprehensive review on tumour active palladium compounds and structure–activity relationships. *Coordination Chemistry Reviews*, 316, pp.36-67.