

AMINOKYSELINY A JEJICH INTERAKCE S TĚŽKÝMI KOVY

Natalia Cernej^{a,b}, Zbyněk Heger^{a,b}, Ondřej Zítka^{a,b}, Vojtěch Adam^{a,b}, René Kizek^{a,b}

^a Ústav chemie a biochemie Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

^b Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně, Technická 10, 616 00 Brno, Česká republika

Amino Acids and their interactions with heavy metals

In this study we attempted to characterize amino acids properties and their possible interactions with the metal ions. In the first part of this study we described the structure of amino acids, its biochemical properties and its role in organism. In the next and the most important part we summarized accessible information about the metals and heavy metals which can form a bond with amino acids. Especially the heavy metals could have really important role in the process of metabolisms of amino acids, but this role is still unknown.

Přijato k publikování: 10. 8. 2014

Klíčová slova: Aminokyseliny; cystein; detoxifikace; těžké kovy

Úvod

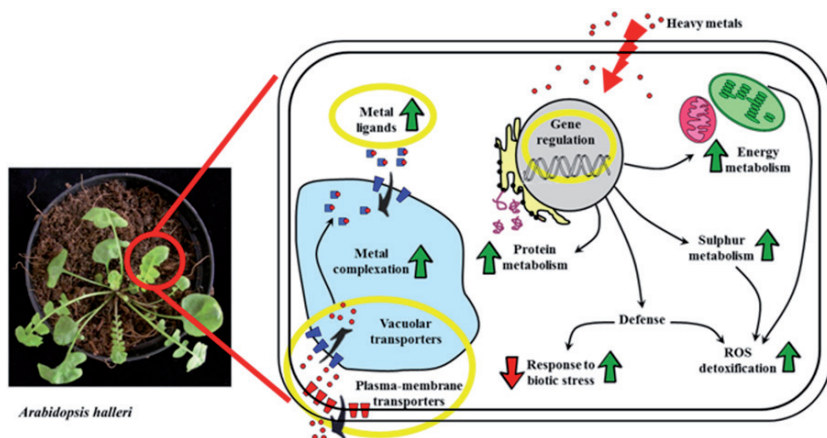
Nedostatek některých kovů v metabolismu živočichů může vést k vážnému narušení homeostázy, stejně tak jako jejich přítomnost ve vyšších koncentracích. U kovů je známo více druhů toxického působení. Arsen, chrom a platina působí kancerotoxicky. Zlato, kobalt, chrom, nikl a platina působí imunotoxicky. Rtuť má teratogenní a embryotoxický účinek. Kadmium, olovo a thalium jsou spermiotoxické. Uran působí nefrotoxicky a měď, železo, selen a zinek neurotoxicky. Pokud by se kovy v organismu pohybovaly volně bez kontroly, nastal by stav, při kterém dochází vlivem jejich působení k tvorbě reaktivních kyslíkatých sloučenin, jako je peroxid vodíku, superoxid nebo hydroxylový radikál. Tyto anorganické sloučeniny pak mohou oxidovat biochemické molekuly a narušovat tak homeostázu organismu. V první obranné linii proti těmto sloučeninám zpravidla vždy stojí sloučenina, která je schopna tyto účinky zmírnit, nebo úplně vyrušit, a to bez poškozování organismu nebo narušení homeostázy. Děje se tak chemickou cestou formou redukce vodíkem. Aminokyseliny hrají hlavní roli jako složky proteinů a meziprodukty metabolismu. Kovové ionty jsou nezbytné jako stopové prvky, ale při vyšších koncentracích se stávají toxické. Těžké kovy jsou obtížné odstranit z životního prostředí a na rozdíl od

mnoha jiných znečišťujících látek nemohou být chemicky nebo biologicky degradovány a nakonec jsou nezníčitelné ¹. Dnes, mnoho těžkých kovů představuje globální nebezpečí pro životní prostředí. Například, znečištění životního prostředí Cd, vyplývající zejména z těžby a tavení, šíření čistírenských kalů a používání fosfátových hnojiv, se zvyšuje. To znamená, že použití mikroorganismů a rostlin pro dekontaminaci těžkých kovů přitahuje stále větší pozornost, protože z několika problémů, spojených s odstraněním znečišťujících látek za použití běžných metod ². Mechanismy podílející se na bakteriální resistenci vůči těžkým kovům jsou buď aktivní vylučování toxických kovů z buňky, nebo enzymatická detoxikace (toxické ionty přechází na méně toxické či méně dostupné kovové ionty). Detoxifikace kovů tvorbou komplexů je využívána u většiny eukaryot ³ (**Obr. 1**). Nejlepší předpoklad pro takovéto účinky má zejména thiolová skupina aminokyseliny cysteinu a dále pak nukleofilní vlastnosti postranních řetězců aminokyselin jako methionin, histidin nebo tryptofan.

Cystein

Cystein je v organismu syntetizován z methioninu a serinu, kde je methionin přeměněn na homocystein přes S-adenosylmethionin a S-adenosylcystein ⁴. Cystein je jednou ze dvou

neesenciálních sirných aminokyselin, obsahující atom síry ve formě thiolové skupiny, která je umístěna na posledním γ -uhlíku řetězce. Díky tomu má cystein nukleofilní vlastnosti a proto je nevhodnější aminokyselinou pro vazby kovových iontů. Díky redoxním vlastnostem a schopnosti být donorem elektronů je thiolová skupina v cysteinu velmi důležitá při tvorbě strukturních interakcí, přes redoxní katalýzu, hydrolyzu až po možnost vazby kovů, kde se uplatňuje v podobě -S-S- můstků, redoxní katalýzu anebo hydrolyzu (Obr. 2) ⁵.



Obr. 1: Schéma detoxikace těžkého kovu v rostlinné buňce

Methionin

Methionin je druhou ze dvou neesenciálních sirných aminokyselin a oproti cysteinu, jehož je prekurzorem, má méně výrazné kov-vázající vlastnosti, jelikož atom síry se zde nenachází jako snadně přístupná thiolová skupina, ale jako disulfid. Methionin při interakcích s kovy většinou se projevuje jako donor elektronových párů ⁶, je to způsobeno odlišným umístěním atomu síry v molekule cysteinu. Síra v methioninu nemůže poskytovat valenční elektron pro potenciální vazbu s kovem, protože oba vazebné valenční elektrony jsou využity pro vazbu s atomem uhlíku v rámci struktury methioninu. Z tohoto důvodu se methionin při interakcích s kovy většinou projevuje v rámci struktury proteinu pouze koordinačními vazbami a to v roli donoru elektronových párů ⁷. Methionin

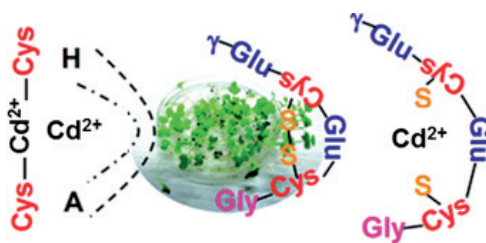
má významný derivát, kterým je homocystein. Molekula homocysteinu neobsahuje methylovou skupinu na atomu síry a proto má dobré možnosti pro vazbu kovu, je analogem cysteinu, obsahující jeden uhlík v řetězci navíc ⁷.

Histidin

Při interakci s kovy využívá koordinačních vlastností aminokyselina histidin, a to díky přítomnosti imidazolového dusíku, který má nukleofilní vlastnosti ⁸. Možnost tvorby interakcí kadmia s histidinem byla studována také u

vodních mikroorganismů ⁹. Byl také proveden experiment na testování interakce proteinu Cap43 s ionty Ni^{2+} a Cu^{2+} , kde každý z kovů byl koordinován histidinem ¹⁰. Histidin může s kovy interagovat více způsoby a to jednak kova-

lentní interakcí vzdálenějšího dusíku nebo elektrostatickou interakcí s volným elektronovým párem dusíku, který přímo sousedí uhlíkem, který spojuje imidazol s alifatickým řetězcem.



Obr. 2: Schéma vazby Cd^{2+} + PC2 pomocí -S-S- můstků

Tryptofan a Fenylalanin

Významnou roli v interakcích hraje tryptofan a fenylalanin. Mezi aminokyseliny, které z chemického hlediska mohou přispívat k interakcím kovů s bílkovinami přes karboxylovou skupi-

nu (-COOH) jsou aminokyseliny asparagová a glutamová ⁸, které tak mohou kovy pomocí karboxylové skupiny stabilizovat v dané bílkovině. V případě glycinu byla možnost interakce teoreticky studována intramolekulárně dokonce i v rámci jeho struktury, kdy interagoval jak karboxyl, tak aminoskupina ¹¹.

Glutathion

Peptidy jsou krátké aminokyselinové úseky, kde primární struktura je dána sekvencí aminokyselin. A tak lze předpokládat, že interakce s kovem, které jsou ovlivněny složením peptidu, lze také *in vitro* studovat záměnou sousedících aminokyselin s kov-vaznou aminokyselinou. V organismu se vyskytuje více peptidů, které mohou interagovat s kovy. Glutathion (GSH) je jeden z nejdůležitějších peptidů v organismu (rostlinném i živočišném) ¹². Jedna se o tripeptid, který je složen z kyseliny glutamové, cysteinu a glycinu. Vzhledem k přítomnosti cysteinu v GSH byla možnost vazby s kovem prokázána v literatuře ¹³. Glutathion je součástí biochemických procesů, které pomáhají udržovat redoxní rovnováhu organismu pomocí glutathion-askorbátového cyklu ¹². Vazba kovu na cystein v molekule GSH je nejvíce ovlivněna redoxními vlastnostmi daného kovu. Významným enzymem v rámci biochemie GSH je Glutathion S-transferáza (GST), která katalyzuje konjugaci GSH s xenobiotiky (karcinogeny a produkty oxidativního stresu) a tak je umožněna jejich detoxifikace. Zvýšená exprese GST byla upozorována u pacientů s rakovinou prostaty (CaP) po aplikaci chemoterapii ¹⁴.

Závěr

Studium interakce aminokyselin s těžkými kovy je stále atraktivní téma a v poslední době se jim věnuje zvýšená pozornost. Metalomika, je vědní obor, který se zabývá systematickým studiem metalomů, interakcí a funkčních spojení kovů a jejich vztahy s geny, proteiny, metabolity a ostatními biomolekulami v živých organizmech a ekosystémech. Metalomika je zaměřena na studium rolí, příjmu, transportu a skladování stopových kovů iontů toxických a esenciálních pro organismus a také pochopení mechanismů životních procesů spojených s

kovy. V současné době transport některých kovů a možnosti vazeb kovů na některé volné aminokyseliny, anebo menší biomolekuly doposud nedostatečně prozkoumané. Výsledky interakce kovů s biomolekulami, jako jsou aminokyseliny, peptidy a bílkoviny jsou důležité pro pochopení obranných mechanismů organismů.

Tato práce byla financována z projektu NANOLABSYS CZ.1/072.3.00/20.0148

The authors declare they have no potential conflicts of interests concerning drugs, products, services or another research outputs in this study.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

Literatura

1. Mahadevan, R.; Bond, D.R.; Butler, J.E.; Esteve-Nunez, A.; Coppi, M.V.; Palsson, B.O.; Schilling, C.H.; Lovley, D.R. Characterization of metabolism in the Fe(III)-reducing organism *Geobacter sulfurreducens* by constraint-based modeling. *Appl Environ Microbiol.* 2006, 72, 1558-1568.
2. Silver, S.; Phung, L.T. Bacterial heavy metal resistance: New surprises. *Annual Review of Microbiology.* 1996, 50, 753-789.
3. Hall, J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J Exp Bot.* 2002, 53, 1-11.
4. Toohey, J.I. Sulfur Amino Acids in Diet-induced Fatty Liver: A New Perspective Based on Recent Findings. *Molecules.* 2014, 19, 8334-8349.
5. Giles, N.M.; Giles, G.I.; Jacob, C. Multiple roles of cysteine in biocatalysis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003, 300, 1-4.
6. Zenk, M.H.; Juenger, M. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry.* 2007, 68, 2757-2772.
7. Bridges, C.C.; Zalups, R.K. Homocysteine, system b₀,+ and the renal epithelial transport and toxicity of inorganic mercury. *Am J Pathol.* 2004, 165, 1385-1394.
8. Appleton, T.G.; Hall, J.R.; Prenzler, P.D.; Ross, F.B. Complexes of Peptides and related molecules with diammine Platinum-II models for platinum protein interactions. *Anti-Cancer Drug Design.* 1991, 6, 262-263.
9. Pokrovsky, O.S.; Martinez, R.E.; Golubev, S.V.; Kompantseva, E.I.; Shirokova, L.S. Adsorption of metals and protons on *Gloeocapsa* sp cyanobacteria: A surface speciation approach. *Applied Geochemistry.* 2008, 23, 2574-2588.
10. Zoroddu, M.A.; Medici, S.; Peana, M.; Kowalik-

Jankowska, T.; Kozłowski, H. Interaction of Cap43 Protein Fragments with Ni(II) and Cu(II), Medimond S R L, 40128 Bologna, 2008.

11. Hoyau, S.; Ohanessian, G. Interaction of alkali metal cations (Li⁺-Cs⁺) with glycine in the gas phase: A theoretical study. *Chemistry-a European Journal*. 1998, 4, 1561-1569.
12. Noctor, G.; Queval, G.; Mhamdi, A.; Chaouch, S.; Foyer, C.H. *Glutathione. Arabidopsis Book*. 2011, 9, 18.
13. Cobbett, C.S. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiol*. 2000, 123, 825-832.
14. Chen, R.; Ren, S.; Meng, T.; Aguilar, J.; Sun, Y. Impact of glutathione-S-transferases (GST) polymorphisms and hypermethylation of relevant genes on risk of prostate cancer biochemical recurrence: a meta-analysis. *PLoS One*. 2013, 8.



Článek je volně šiřitelný pod licencí Creative Commons

(BY-NC-ND). Musí však být uveden autor a dokument nelze měnit a používat pro komerční účely.