

# Studium interakce kadmnatých iontů s cysteinem

A STUDY OF INTERACTION OF CADMIUM(II) IONS WITH CYSTEINE

Ondřej Zítka<sup>1</sup>, Jiří Sochor<sup>1</sup>, Natalia Cernei<sup>1</sup>, Vojtěch Adam<sup>1</sup>, Josef Zehnálek<sup>1</sup>, Aleš Horna<sup>2</sup>, Jaromír Hubálek<sup>3</sup>  
Libuše Trnková<sup>4</sup>, Ladislav Havel<sup>1</sup>, René Kizek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mendelova univerzita v Brně; <sup>2</sup>Radanal s.r.o.; <sup>3</sup>Vysoké učení technické v Brně

<sup>4</sup>Masarykova univerzita

Cystein je jednou ze dvou biogenních sirných aminokyselin. Je biosyntetizován ze dvou aminokyselin, a to methioninu a serinu, kde methionin je nejprve přeměněn na homocystein přes intermediáty S-adenosylmethionin a S-adenosylcystein. Pro stanovení určité aminokyseliny lze použít důkazové reakce, které jsou specifické pro danou aminokyselinu, a to na základě jejích chemických vlastností a struktury. Kvalitativní a kvantitativní aspekty závisí na dané metodě. Pro kvantifikaci aminokyseliny cysteinu se používá Ellmanova metoda, která je založena na interakci thiolové skupiny aminokyseliny s Ellmanovým činidlem 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoové kyseliny (DNTB).

## Materiál a metody

Příprava vzorků byla prováděna pomocí automatické pipetovací stanice epMotion 5075 (Eppendorf, Německo). Spektrofotometrická analýza pomocí Ellmanovy reakce probíhala na automatickém analyzátoru BS-200 (Mindray, Čína).

## Výsledky a diskuze

V našem experimentu jsme sledovali tvorbu komplexu mezi cysteinem a kadmnatými ionty ve čtyřech časových intervalech a to 10, 15, 30 a 60 min. Testovali jsme dále různé koncentrace cysteinu (10, 25, 50 a 100  $\mu\text{M}$ ) a kadmnatých iontů (0,5; 1; 2,5; 5; 7,5; 10; 25; 50; 75 a 100  $\mu\text{M}$ ). Předpokládali jsme, že při interakci thiolové skupiny cysteinu s kovem se sníží podíl volných thiolových skupin pro reakci s DNTB, a tak se bude oproti kontrole snižovat zaznamenaná absorbance. Vzhledem k tomu, že při proměření samotné koncentrační řady kadmia byla zaznamenána interferující absorbance, museli jsme přistoupit k normalizaci výstupních hodnot. Odečítána tedy byla konstanta, která vzešla z průměrné interference kadmia. Po odečtu interferenční konstanty od celkového signálu komplexu aminokyseliny s kovem v různém čase jsme získali hodnotu, která by měla být spolu se vzrůstající koncentrací kovu klesající. Pokud interakce aminokyseliny s kadmniem byla vysoká, zaznamenávali jsme záporné hodnoty. Pro všechny závislosti změny absorbance na základě změny koncentrace kovu a aminokyseliny při různých časech byly provedeny korelace pomocí logaritmické spojnice trendu. Tato křivka ukazuje velmi názorně průběh všech trendů a je charakterizována rovnicí  $Y = a \cdot \ln(X) - b$ . Nejvyšší míra interakce byla zaznamenána při 50  $\mu\text{M}$  aplikované koncentraci a po 60minutové interakci. V této

práci se nám podařilo automatizovat metodu přípravy, a spolu s automatickou metodou analýzy jsme docílili vysoké opakovatelnosti a přesnosti při analýzách tohoto typu. Na rozdíl od manuální přípravy vzorků, které zahrnuje i míchání reagensů, je totiž do značné míry omezen lidský faktor a celý postup se tímto navíc zrychluje. Potvrdili jsme také, že metody využívající UV-VIS spektrometrii mohou být v námi prezentovaném uspořádání velmi užitečné pro multifaktoriální studování tvorby komplexů. Získané výsledky přináší nové poznatky pro fytoimediační a biosenzorové technologie.

*Poděkování: Tato práce byla podpořena grantem REMEDIACE-LEN 1M06030 a REMEDTECH GA ČR 522/07/0692, NANIMEL GA ČR 102/08/1546 a INCHEMBIOL MSM0021622412.*

**Zítka O., Sochor J., Cernei N., Adam V., Zehnálek J., Horna A., Hubálek J., Trnková L., Havel L., Kizek R.: A study of interaction of cadmium(II) ions with cysteine**

Due to the newly emerging knowledge about the role of metals in organisms the study of metal interactions with biomolecules is topical. Aminoacids, mainly cysteine, belong to the one of the biomolecules groups attracting the attention. Cysteine is due to its chemical properties parts of many metal-binding peptides, structural proteins and enzymes. The aim of this study was to optimize a method for monitoring interactions between metals and aminoacids in vitro by using UV-VIS spectrometry. We investigated the influence of several factors such as the concentration of both components and the time for complex formation between the aminoacid and the metal. We have managed to automate the method of preparation, and with an automatic analysis method, we have achieved high accuracy and repeatability of this type measurements.

**Key words:** complex, aminoacid, metal, UV-VIS spectrometry, automated method.

## Kontaktní adresa – Contact address:

doc. Ing. René Kizek, Ph. D., Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav chemie a biochemie, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika; e-mail: kizek@sci.muni.cz