

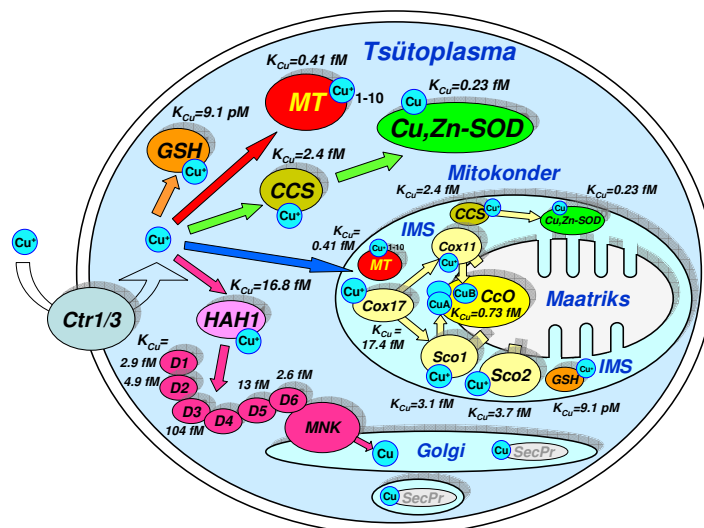
Eesti biokeemikute artikkel publitseeriti teaduse tippajakirjas *Nature*.

Tallinn, 12. mai 2010

Eesti Biokeemia Seltsil on rõõm teatada Eesti biokeemikute, professor Peep Palumaa töögrupi tähelepanuväärsest saavutusest – artikli publitseerimisest ajakirjas *Nature* (1).

Professor Peep Palumaa töögrupp on rida aastaid intensiivselt uurinud vase, kui kõigile elu vormidele olulise mikroelemendi rolli rakkude ja mitokondrite funktsioneerimisel. Nad on selles valdkonnas juba saavutatud terve rida olulisi teadustulemusi, milleks on mitmete vase valkude ja nende metallikomplekside ruumilise struktuuri dešifreerimine (2-4) ja uut tüüpi redoks vahendatud vase ülekandemehhanismi avastamine (5). Vaatamata olulisele rollile elutegevuses on rakuline vask potentsiaalselt toksiline, kuna vabad vaskioonid katalüüsivad rakus kõrge reaktsioonivõimega hapniku derivaatide, eelkõige hüdroksüülradikalide (OH^\bullet) teket. OH^\bullet radikaalid on võimelised kontrollimatult reageerima enamuse orgaaniliste molekulidega. Taoliste nn. Fenton tüüpi reaktsioonide tagajärjel võivad rakkudes kahjustuda kõik biomolekulid k.a. nukleiinhapped, valgud ja membraanlipiidid, mis teatud tasemest alates häirib rakkude normaalset funktsioneerimist ja kõrgendatud tasemel on toksiline. Taolised akumulatsioonid biomolekulide oksüdatiivsed kahjustused ehk oksüdatiivne stress, põhjustabki suures osas elusorganismide vananemist. Lisaks vananemisele esineb oksüdatiivne stress ka paljude haiguste, mille hulka kuuluvad eelkõige neurodegeneratiivsed haigused nagu Alzheimeri ja Parkinsoni tõbi, kuid ka ateroskleroos ja diabeet, patogeneesis. Vananemise ja oksüdatiivse stressi foonil kulgevate haiguste puhul on redoksaktiivsete biometallide (peamiselt vase ja raua) tase ja tasakaal organismis ja rakkudes oluliselt muutunud, mis viitab nende metallide metabolismi häirete seotusele haiguste arenguga. Eelpool loetletud põhjustel on tekkinud oluline huvi ja vajadus redoksaktiivsete metallide, eelkõige vase, rakulise metabolismi ja homeostaasi paremaks mõistmiseks, kusjuures uuel teadmisel oleks oluline biomeditsiiniline rakendus rakuliste metall-sõltuvate patoloogiliste protsesside mõjutamise ja mahasurumise näol.

Ajakirjas *Nature* avaldatud artiklis (1) kasutas Prof. Palumaa tööühm rakulise vase metabolismi uurimiseks süsteemibiloloogilist lähenemist ja määras praktiliselt kõigi rakuliste vase(I) siduvate valkudele afiinsused vase(I)ioonide suhtes. (vt. Joonis 1).



Joonis 1. Raku vase(I) valgud ja nende metallisidumis afiinsused (1).

Uuritavateks valkudeks olid kaks üliolulist vase ensüümi. Esimeseks ensüümkompleksiks oli mitokondriaalne tsütokroom c oksüdaas (CCO), ehk mitokondriaalse hingamisahela kompleks IV, milles toimub orgaaniliste toitainete lagundamisel saadud elektronide ülekande molekulaarsele hapnikule. CCO omab üliolulist rolli raku energietikas ja ta on märklauaks ühele kõige kiiremini mõjuvale mürgile - tsüaniidile, mis lülitab momentaalselt välja rakulise oksüdatiivse energiatootmise. Teiseks vase ensüümiks oli Cu,Zn-superoksiid dismutaas (SOD-1), mis osaleb rakule potentsiaalselt toksiliste superoksiidradikalide (O_2^{\cdot}) neutraliseerimisel ja omab seega üliolulist rolli rakusiseses oksüdatiivse stressi mahasurumisel. SOD-1 ja SOD-2 ning nendega seotud antioksidatiivsed ensüümide, eelkõige katalaasi, taseme tõstmisega mudelorganismides on saavutatud erinevate organismide eluea oluline pikenemine. Kolmandaks uurimisobjektiks oli Golgi kompleksi membraanides paiknevat vase transportervalgu – nn. Menkesi valk (MNK), mis transpordib vaske siduvate domeenide (D1-D6) abil vase ioone Golgi kompleksi ja varustab vasega sekreteeritavaid valke. Lisaks neile uuriti kõiki rakulisi vase šaperoone ehk vase ülekandevalke Cox17, Sco1 ja Sco2 ning CCS ja HAH1, millest kolm esimest osalevad CCO ja kaks viimast vastavalt SOD-1 ja Menkesi valgu metalleerimisel. Saamaks täielikku ülevaadet rakulistest vaske siduvatest molekulidest määrati ka rakulise tripeptiidi glutatiooni (GSH) ja erakordselt tsüsteiinirikka vase regulaatorvalgu – metallotioniini (MT) afiinsused vask(I)ioonide suhtes.

Eesmärkide saavutamiseks töötati välja spetsiaalne elektropihustamise ionisatsiooni mass-spektromeetrial (ESI-MS) baseeruv universaalne uurimismetoodika, mis võimaldab uurida väga erinevate valkude vask(I) ionide sidumisomadusi rakulisele keskkonnale sarnases redokskeskkonnas. Uuringutes kasutati TTÜ Loodusteaduste Majas paiknevat kaasaegset ESI Q-TOF mass-spektromeetrit QSTAR Elite (Applied Biosystems), mis on hetkel üks kaasaegsemaid ja tundlikumaid mittekovaalentsete interaktsioonide uurimiseks sobivaid MS instrumente ja mille rakendamisel metalloproteiinide uurimiseks kuuluvad Eesti teadlased maailma eliiti.



Joonis 2. ESI Q-TOF mass-spektromeeter QSTAR Elite (Applied Biosystems)

Saadud termodünaamilised ja kineetilised süsteemsed andmed, mis on illustreeritud Joonisel 1, võimaldavad esmakordselt mõista rakulist vase homeostaasi ja jaotust erinevate valkude vahel ning selgitavad, milliste mehhanismide abil suudavad rakud varustada vasega olulisi vask ensüüme, kuid samas ära hoida vase liiaga seotud toksilisi efekte.

Professor Peep Palumaa (TTÜ, Geenitehnoloogia Instituut) juhitud teadusprojektis osales TTÜ geenitehnoloogia doktorant Kairit Zovo ja töö teostati koostöös professor Ivano Bertini

(<http://www.cerm.unifi.it/home/people/bertini.html>) töörühmaga Firenze Ülikoolist, mille liikmed on maailma tipptasemel spetsialistid metalloproteiinide struktuuribioloogia alal.

Kirjandus

1. Banci, L., Bertini, I., Ciofi-Baffoni, S., Kozyreva, T., Zovo, K., and Palumaa, P. (2010) Affinity gradients drive copper to cellular destinations, *Nature*, *Epub 2010 May12*. http://www.nature.com/nature/journal/vaop/ncurrent/full/nature09018.html#.
2. Banci, L., Bertini, I., Ciofi-Baffoni, S., Janicka, A., Martinelli, M., Kozlowski, H., Palumaa, P. A structural-dynamical characterization of Human Cox17 (2008) *J. Biol. Chem.* 283, (12), 7912-7920.
3. Banci, L., Bertini, I., Ciofi-Baffoni, S., Leontari, I., Martinelli, M., Palumaa, P., Sillard, R., Wang S. Human Sco1 functional studies and pathological implications of P174L mutant. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 104 (1), 15-20.
4. Banci, L., Bertini, I., Calderone, V., Ciofi-Baffoni, S., Mangani, S., Martinelli, M., Palumaa, P., Wang S. From different structures a hint for the function of human Sco1. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103 (23), 8595-8600.
5. Banci, L., Bertini, I., Ciofi-Baffoni, S., Hadjiloi, T., Martinelli, M., Palumaa, P.. Mitochondrial copper(I) transfer from Cox17 to Sco1 is coupled to electron transfer. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105 (19), 6803 - 6808.