

SVETLOM INDUKOVANÉ VYPLAVOVANIE FLAVÍNMONONUKLEOTIDU Z PROTEÍNOVEJ DOMÉNY AsLOV2

K. Felčíková¹, K. Vujčíková², A. Strejčková², G. Bánó¹, E. Sedlák³, A. Hovan¹

¹Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta, Katedra biofyziky, Košice, SR

²Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra chémie, biochémie a biofyziky, Košice, SR

³Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Centrum interdisciplinárnych biovied, Košice, SR

Úvod

Fotodynamická terapia (PDT) nádorových ochorení je založená na tvorbe reaktívnych kyslíkových foriem, ktoré vznikajú pri interakcii medzi fotosenzibilizátorom, svetlom a molekulovým kyslíkom. Ožiarení fotosenzibilizátora svetlom vhodnej vlnovej dĺžky sa aktivuje fotoaktívny proces, pri ktorom fotosenzibilizátor odovzdáva svoju energiu molekule kyslíka, ktorá sa následne vybudí do vysoko reaktívneho singletového stavu. Výsledkom tohto procesu je oxidatívny stres, ktorý spúšťa bunkovú smrť v nádorovom tkanive. V súčasnosti sa vyvíjajú fotosenzibilizátory obalené v geneticky upravenej proteínovej štruktúre, ktorá je zacielená na choré tkanivo. Naším cieľom bolo študovať podmienky vyplavovania fotosenzibilizátora z proteínovej štruktúry a sledovať produkciu singletového kyslíka. Na základe predchádzajúcich výsledkov [1] sme vedeli, že pulzným žiarením vieme podnieť vyplavovanie FMN z proteínovej štruktúry. Z hľadiska praktického využitia sú však oveľa dôležitejšie kontinuálne lasery a preto sme sa na nich zamerali.

Materiál a metódy

Vzorka o objeme 2 ml obsahujúca 25 μ M proteín AsLOV2 bola umiestnená do kyvety, ktorá bola následne ožarovaná kontinuálnym laserom s vlnovou dĺžkou 450 nm, s rôznymi výkonmi v rozsahu 1-100 mW. Vyplavovanie FMN sme monitorovali pomocou fosforescencie vytvoreného singletového kyslíka. Singletový kyslík sme generovali pulzným Nd:YAG laserom v kombinácii s optickým parametrickým oscilátorom s výslednou vlnovou dĺžkou 475 nm. Fosforenciu sme detegovali pomocou fotonásobiča Hamamatsu H10330A-75, ktorý počítal jednotlivé fotóny. Výslednú časovú závislosť fosforescencie singletového kyslíka sme získali pomocou multikanálovej čítačky Becker & Hickl, MSA-300.

Výsledky

Pomocou spomenutej metodiky sme sledovali uvoľňovanie FMN z proteínovej štruktúry v dôsledku ožiarenia vzorky kontinuálnym laserom s výkonom 1 mW. Pri vyšších hodnotách výkonu dochádzalo nielen k vyplavovaniu FMN, ale priamo aj k fotobieleniu FMN.

Záver

Tieto výsledky majú veľmi dôležitý aplikačný potenciál, nakoľko vieme svetlom lokálne spínať vyplavovanie FMN z proteínovej štruktúry AsLOV2 do okolitého prostredia pomocou slabého kontinuálneho laserového žiarenia.

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV 20 – 0340 a Grantovou agentúrou MŠVVaŠ SR (VEGA 1/0557/20).

Literatúra

[1] Petrenčáková a spol.: Photoinduced damage of AsLOV2 domain is accompanied by increased singlet oxygen production due to flavin dissociation. Scientific reports, 2020, 10(1):4119.