

STRESZCZENIE

Kinazy adenylanowe (AK, EC 2.7.4.3) to fosfotransferazy katalizujące odwracalne reakcje przeniesienia wysokoenergetycznych reszt β - i γ -fosforanowych pomiędzy nukleotydami. Ich podstawową funkcją jest regulacja stężenia nukleotydów adeninowych, które stanowią jedne z najbardziej uniwersalnych cząsteczek organizmów żywych. W układzie krwionośnym, ATP, ADP i adenozyne pełnią rolę cząsteczek sygnalizacyjnych regulujących procesy immunologiczne, hemostazę oraz szybkość przepływu krwi. Zaburzenie mechanizmów aktywacji i agregacji płytek krwi jest pierwotną przyczyną rozwoju procesów zapalnych, trombogenezy i miażdżycy. W niedotlenieniu oraz zawale komórek mięśnia sercowego obserwuje się wzrost aktywności kinazy adenylanowej. Dotychczas nie określono roli tego w regulacji procesu krzepnięcia krwi, ani nie przedstawiono kompleksowej charakterystyki biochemicznej izoenzymów AK obecnych w komórkach układu krwionośnego i we krwi. Głównym celem tych badań była charakterystyka właściwości fizykochemicznych i kinetycznych dwóch izoenzymów AK1 i AK2 oraz analiza statystyczna aktywności kinazy adenylanowej w surowicy krwi pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi. Badania te pozwoliły ocenić przydatność AK jako markera niedokrwienia mięśnia sercowego oraz określić jej rolę w procesie agregacji płytek krwi. Do analizy właściwości kinetycznych użyto ludzkich izoenzymów AK1 i AK2 zsyntetyzowanych w prokariotycznym systemie ekspresyjnym. W niniejszej pracy opracowano metodę ekspresji i oczyszczania tych białek oraz renaturacji *in vitro* AK2. Charakterystyka AK1 i AK2 obejmowała określenie specyficzności substratowej względem trifosforanów nukleozydów, optimum pH, stałych powinowactwa do nukleotydów adeninowych, wrażliwości na jony metali dwuwartościowych oraz $A_{p5}A$ - inhibitor kinaz adenylanowych. Przeprowadzone badania udowodniły, że enzymy te nie są bezwzględnie $ATP:AMP$ fosfotransferazami. Ich powinowactwo do ADP i ATP jest niższe od kinazy kreatynowej. Duża stabilność w kwaśnym pH izoenzymów AK1 i AK2 umożliwia im wydajne funkcjonowanie w warunkach niedotlenienia. Mimo podobnego planu budowy enzymy te różnią się wrażliwością na jony metali dwuwartościowych oraz $A_{p5}A$. Przedstawione badania wskazują również, że AK1 i AK2 są regulowane przez ATP na drodze allosterycznych oddziaływań. Na podstawie silnej wrażliwości na $A_{p5}A$ udowodniono, że we krwi człowieka dominuje izoenzym AK1, który wydajniej katalizuje reakcję syntezy ATP niż ADP, jednak w warunkach *in vitro* nie hamuje on agregacji płytek krwi.