

Popularnonaukowe streszczenie projektu

Dna rzekoma, znana również jako chondrokalcynoza, jest chorobą wieku starczego. Manifestuje się obecnością mikroskopijnych kryształów pirofosforanu wapnia (CPP) w płynie stawowym. Może powodować zapalenie kości i stawów. W Stanach Zjednoczonych dotyka 50% populacji w wieku powyżej 85 lat a we Włoszech jest czwartą najczęstszą chorobą dotykającą układ mięśniowo szkieletowy. W ostrych przypadkach, kiedy staw kolanowy jest zaatakowany może unieruchomić pacjenta. Ostre przypadki zapalenia stawów wywołane obecnością kryształów CPP leczy się objawowo poprzez okłady z lodu oraz przebicie sustava (usunięcie części płynu maziowego ze stawu). W wyjątkowo ciężkich przypadkach stosuje się wymianę stawu na sztuczny.

Choroby związane z odkładaniem się kryształów CPP są uznawane za najczęstsze, nierozpoznane przyczyny bólów stawów, zapalenia kości i stawów oraz ostrego bólu w karku. Główny składnik kryształu, pirofosforan jest molekułą która powstaje jako produkt uboczny polimeryzacji kwasów nukleinowych (DNA i RNA). Jego poziom jest jednak trzymany na niskim poziomie dzięki enzymom zwanym pirofosfatazami. W stawach ludzi z dną rzekomą enzymy te mają obniżony poziom aktywności pozwalając kryształom rosnąć.

W tym projekcie użyjemy metody prezentacji fagowej do poszukiwania nowych związków mogących leczyć CPPD. Poprzez naśladowanie w sztucznych warunkach procesu ewolucji chcemy uzyskać krótkie, do dziesięciu aminokwasów, peptydy posiadające właściwości rozkładania pirofosforanu na powierzchni kryształów. Zaczniemy od niemal losowej sekwencji wzbogaconej jedynie o reszty aminokwasowe które są kluczowe do katalizy prowadzonej przez pirofosfatazy i przyłączymy ją do bakteriofagowego (wirus bakterii) białka kodującego jego osłonkę białkową w taki sposób aby na jego powierzchni mógł być eksponowany nasz peptyd. Podczas namnażania wirusa w komórkach E. coli pozwolimy wirusowi zmutować dając różne warianty naszego peptydu. Następnie przeprowadzimy selekcję pod względem przyłączania do pirofosforanu oraz rozpuszczania kryształów CPP. Bakteriofag, który będzie miał najlepsze wyniki w obu tych zadaniach zostanie wybrany do kolejnej rundy mutacji. Powtórzymy to badanie aż nie otrzymamy peptydu o zadowalających właściwościach. Na koniec przeprowadzimy badania enzymatyczne oraz strukturalne by poznać mechanizm jego działania.

Chcielibyśmy aby otrzymany w ten sposób peptyd mógł zostać użyty w walce z chorobami związanymi z obecnością kryształów pirofosforanu wapnia jako środek aktywny maści i zastrzyków dostawowych stając się pierwszym terapeutycznym środkiem do walki z dną rzekomą.