

Streszczenie projektu: *Wpływ modelowych błon biologicznych na strukturę i proces oligomeryzacji ludzkiej cystatyny C.*

Choroby amyloidogenne (amyloidozy) należą do głównych problemów z jakimi zmagają się współcześnie medycyna. Choroby te charakteryzują się gromadzeniem w różnych częściach organizmu nierozpuszczalnych białek, co prowadzi do powstawania stanów chorobowych. Do amyloidoz zaliczamy tak szeroko rozpowszechnione schorzenia jak choroby Alzheimera, Parkinsona, reumatoidalne zapalenie stawów, czy cukrzyca typu II. Podstawowym problemem związanym z amyloidozami, z jakim boryka się medycyna, jest brak możliwości skutecznego leczenia pacjentów – dostępna jest jedynie terapia objawowa. Dotychczas wiadomo, że nierozpuszczalne formy białek, powstające w przebiegu amyloidoz, tworzą się z rozpuszczalnych monomerów na drodze dimeryzacji i oligomeryzacji. Sam mechanizm procesu pozostaje jednak zagadką. Jedną z hipotez powstawania amyloidu wskazuje na błony biologiczne jako katalizator procesu i rozważa możliwe mechanizmy toksyczności komórkowej białek amyloidogennych. Toksyczny wpływ względem komórki mogą mieć nierozpuszczalne złoże amyloidowe, kumulujące się na powierzchni komórki i uszkodzające ją. Mogą one również gromadzić toksyczne produkty przemiany materii. Inną z proponowanych toksycznych form białek są rozpuszczalne oligomery przypominające kształtem obwarzanki (pierścienie). Mogą one wbudowywać się w ścianę komórkową tworząc kanały i wywołując niekontrolowany wypływ zawartości komórki do przestrzeni międzykomórkowej. W dalszym ciągu nie wiadomo jednak do końca, która z form białka jest bardziej toksyczna (nierozpuszczalny amyloid czy rozpuszczalny oligomer), a tym samym jest głównym powodem powstawania stanu chorobowego. Problem dzieli świat nauki, a debata wciąż trwa.

Jednym z opisanych dotąd białek amyloidogennych jest ludzka cystatyna C (hCC) - niewielkie białko należące do rodziny inhibitorów proteinaz cysteinowych. W stanie fizjologicznym białko jest obecne w organizmie w swojej aktywnej, monomerycznej formie i reguluje aktywność proteaz cysteinowych. W stanach chorobowych hCC ulega dimeryzacji, w wyniku której traci aktywność i właściwości inhibicyjne. W kolejnym etapie białko oligomeryzuje, a następnie odkłada się w postaci złożeń amyloidowych m.in. w naczyniach krwionośnych mózgu. Badania wykazały, że podczas oligomeryzacji cystatyny C tworzą się oligomery pierścieniowe. Stan chorobowy powiązany z obecnością agregatów hCC nazywany jest dziedziczną amyloidową angiopatią mózgową. Charakteryzuje się on poważnymi uszkodzeniami naczyń krwionośnych mózgu, masywnymi i częstymi wylewami krwi do mózgu i śmiercią pacjentów w młodym wieku. Interesującą cechą hCC jest jej umiejętność do migracji przez błony biologiczne. Najwyższe stężenia hCC obserwuje się z reguły w płynach fizjologicznych, co pozwala na zastosowanie białka jako markera chorób nerek czy miażdżycy. Jednak białko pełni również ważną rolę inhibicyjną wewnątrz komórki. Jak dotąd udało się udowodnić, że hCC może migrować przez błonę komórkową dwukierunkowo. Proces ten nie został jednak jeszcze szczegółowo opisany i nie wiadomo w jaki sposób hCC przenika przez błonę, ani czy potrzebuje przy tym pomocy od białek transportowych. Nie zbadano również jak błony komórkowe wpływają na stabilność białka i jego skłonność do oligomeryzacji. Celem niniejszego projektu jest ustalenie wpływu błon biologicznych na strukturę i proces oligomeryzacji ludzkiej cystatyny C. Ponieważ badania z wykorzystaniem naturalnych błon biologicznych są bardzo trudne ze względu na ich wysoką złożoność, w projekcie wykorzystane zostaną micelle i liposomy, które są stosowane powszechnie jako mimetyki (analogi) błon biologicznych, a w tym błony komórkowej. W ramach projektu szereg technik takich jak techniki kalorymetryczne, chromatograficzne, elektroforetyczne, fluorescencyjne i spektroskopowe połączonych zostanie z metodami teoretycznymi w celu analizy wpływu obecności błon biologicznych na takie modyfikacje struktury hCC jak dimeryzacja czy oligomeryzacja. Liposomy zostaną również wykorzystane do wstępnej charakterystyki transbłonowego transportu hCC. Wyniki projektu pozwolą na poszerzenie wiedzy w zakresie oddziaływania białek z błonami biologicznymi, wpływu tych oddziaływań na strukturę białek oraz transportu białek przez błony biologiczne.