

Wielopoziomowa chiralność, odwracalność i polimorfizm superstruktur fibryli amyloidowych

Włókna (fibryle) amyloidowe są biologicznymi supracząsteczkami utworzonymi w wyniku agregacji białek. Obecnie uważa się, że powstawanie fibryli amyloidowych jest wspólną cechą wszystkich białek. Włókna amyloidowe są związane z patologią licznych amyloidoz, m. in. są neuropatologiczną cechą choroby Alzheimera. Do tej pory zidentyfikowano ponad pięćdziesiąt białek związanych z chorobami amyloidowymi. Pod względem strukturalnym są to bardzo unikalne, wysoce zorganizowane układy supramolekularne zorganizowane na różnych poziomach strukturalnych, w tym na poziomie struktury drugorzędowej białka, na poziomie protofilamentów i dojrzałych fibryli (struktura mezoskopowa). Istotną cechą fibryli amyloidowych jest ich polimorfizm, tj. skłonność włókien amyloidowych do tworzenia wielu typów strukturalnych, zależnie m. in. od warunków przygotowania fibryli. Inną cechą struktury włókien jest ich supramolekularna chiralność związana z skrętnością protofilamentów i włókien.

Wśród licznych ważnych kontekstów badania fibryli amyloidowych dwa wydają się wyjątkowo istotne. Jednym z nich jest badanie patologii związanych z fibrylami, których występowanie w szybko starzejącej się populacji ludzkiej rośnie. Z punktu widzenia profilaktyki amyloidoz konieczne jest zrozumienie, jakie są cechy strukturalne odpowiadające za odwracalność polimorfów oligomerów i fibryli, a także zidentyfikowanie etapów agregacji, które prowadzą nieodwracalnie do powstania fibryli amyloidowych, lub niezorganizowanych agregatów białkowych. Ponieważ niedawne eksperymenty wykazały współistnienie dwóch lub więcej różnych rodzajów agregatów białkowych w różnych chorobach neurodegeneracyjnych, ważne jest także zrozumienie mechanizmów powstawania włókien amyloidowych z białek heterologicznych.

Drugim bardzo ważnym kontekstem badania struktur amyloidowych jest wykorzystanie fibryli jako nanomateriałów. „Plastikowa katastrofa” zmusza nas do poszukiwania nowych ekologicznych i biodegradowalnych materiałów. Włókna amyloidowe są nie tylko biodegradowalne, ale także biogenne, samoorganizujące się i wykazują wysoki potencjał do funkcjonalizacji. Do kontrolowanej syntezy superstruktur fibryli o zaprojektowanych architekturach i długotrwałej stabilności konieczne jest szczegółowe zrozumienie polimorfizmu fibryli, odwracalności ich tworzenia i podatności dojrzałych fibryli na zmiany strukturalne zachodzące po wpływie środowiska.

Dlatego celem projektu jest lepsze zrozumienie podstawowych zagadnień dotyczących powstawania i struktury fibryli amyloidowych, w tym: skrętności i strukturalnego polimorfizmu, odwracalności struktur powstających w wyniku fibrylizacji (oligomerów i dojrzałych fibryli), zdolności do modyfikacji strukturalnych utworzonych (dojrzałych) włókien, zmian struktur fibryli w wyniku tzw. „zasiewania”, tj. dodania niewielkich ilości „zarodków” polimorfów o innej strukturze, niż te które powstałyby w danych warunkach preparatyki lub „zarodków” innego białka, niż użyte do fibrylizacji.

W projekcie planowane jest podjęcie systematycznych badań fibryli amyloidowych utworzonych z białek różniących się strukturą drugorzędową (α -helisa, β -kartka, mieszana i nieuporządkowana struktura) i w różnych warunkach (pH, temperatura, stężenie białka, mieszanie, siła jonowa, itp.). Ponadto planowana jest analiza modyfikacji struktur włókien po ich utworzeniu, w szczególności analiza odwracalności procesu fibrylizacji oraz systematyczna ocena wpływu „zasiewania” na struktury fibryli.

W analizie wyników planowane jest podejście wieloparametryczne, tj. stosowanie różnych uzupełniających się technik do szczegółowej analizy próbek fibryli. W szczególności zastosowane zostaną spektroskopie chiralooptyczne, które dostarczają unikalnych informacji o strukturach chiralnych, tym samym umożliwią analizę chiralnych architektur fibryli na różnych poziomach ich organizacji oraz metody mikroskopowe o wysokiej rozdzielczości, umożliwiające charakterystykę ich struktur w nanoskali, a w niektórych przypadkach także w rozdzielczości atomowej.

Liczne dane otrzymane i zanalizowane w ramach projektu w systematyczny sposób, dotyczące włókien polimorficznych wytwarzanych z różnych strukturalnie białek, umożliwią wyciągnięcie wniosków na temat:

- wpływu warunków fibrylizacji oraz „zasiewania” na strukturę/skrętność różnych poziomów organizacji włókien, zależności między różnymi poziomami architektury fibryli,
- wpływu różnych parametrów na odwracalność struktur fibryli i modyfikację dojrzałych włókien,
- heterogeniczności włókien i wpływu warunków fibrylizacji na skrętność i polimorfizm włókien,
- polimorfizmu struktur amyloidowych we wczesnych stadiach ich powstawania i związku między ich strukturą, a strukturami dojrzałych fibryli.

Wyniki uzyskane w modelach *in vitro* mogą prowadzić do lepszego zrozumienia i kontroli tworzenia się włókien amyloidowych, co ma kluczowe znaczenie w zapobieganiu amyloidozom i dla rozwoju stabilnych, opartych na fibrylach nanomateriałów o pożądanym właściwościach.