

Summary of the PhD thesis by Przemysław Jurczak entitled

“Studies on the influence of protein-ligand and protein-cell membrane interactions on the amyloidogenic protein oligomerization process: the case of human cystatin C”

Amyloid to pojęcie opisujące nieprawidłowo sfałdowane białko lub peptyd, które uległy agregacji i przyjęły postać nierozpuszczalnych złogów, tracąc swoją funkcjonalność. Proces formowania się amyloidu nie został jeszcze do tej pory jednoznacznie opisany, ale wiadomo, że formy oligomeryczne białek odgrywają w nim kluczową rolę. Zjawisko nieprawidłowego fałdowania i agregacji białek jest istotne, gdyż w wielu przypadkach prowadzi do utraty aktywności białka, a w konsekwencji może wywołać stany chorobowe zwane amyloidozami, pośród których wyróżniamy takie choroby jak choroba Alzheimera czy Parkinsona. Są to poważne stany chorobowe, których nie da się wyleczyć, a ich terapia opiera się jedynie na niwelowaniu objawów choroby.

Istnieją dwa główne kierunki badań dotyczące formowania się amyloidu. Pierwszy ma na celu znalezienie leku na amyloidozy poprzez projektowanie molekuł (modulatorów lub inhibitorów), które mogłyby potencjalnie zapobiegać oligomeryzacji i formowaniu amyloidu. Drugie podejście do badań ma na celu gromadzenie dogłębnej wiedzy podstawowej na temat samego procesu amyloidogenezy i skupia się na molekułach i czynnikach środowiskowych, które potencjalnie mogą promować proces oligomeryzacji.

Według obecnego stanu wiedzy, błony biologiczne są jednym z czynników wykazujących silny wpływ na oligomeryzację białek amyloidogennych, stanowiąc rodzaj powierzchni wywołującej i/lub przyspieszającej proces formowania się toksycznych oligomerów. O toksyczny wpływ na komórki podejrzewa się dwie z oligomerycznych form białek – oligomery obwarzankowe i fibryle amyloidowe. Obserwuje się, że wiele białek amyloidogennych tworzy obie struktury. Pośród nich znajduje się również ludzka cystatyna C (hCC) będąca obiektem moich badań.

Ludzka cystatyna C występuje naturalnie w ludzkim organizmie, gdzie pełni fizjologiczną funkcję inhibitora proteaz cysteinowych. Dodatkowo, występując w większości płynów ustrojowych, również tych usuwanych z organizmu poprzez filtrację kłębuszkową, hCC może służyć jako marker prawidłowego funkcjonowania nerek. Z drugiej strony białko jest powiązane z kilkoma chorobami z grupy amyloidoz, w których zaobserwowano odkładanie się cystatyny C razem z innymi białkami amyloidogennymi w postaci nierozpuszczalnych agregatów. Pojawienie się oligomerycznych form tworzonych przez mutantą L68Q ludzkiej cystatyny C jest bezpośrednio powiązane z wystąpieniem

dziedzicznej angiopatii amyloidowej typu Islandzkiego. Jej główną przyczyną jest kumulowanie się złogów amyloidowych wariantu hCC L68Q w arteriach mózgowych, co prowadzi do ich uszkodzenia, a w konsekwencji wylewów krwi do mózgu i śmierci pacjentów w młodym wieku. Mimo, że symptomy choroby zostały opisane już na początku XX wieku, do tej pory nie udało się odkryć działającego leku.

Badania przedstawione w niniejszej pracy skupiły się na opisie wpływu wybranych ligandów (np. przeciwciał, enzymów, mimetyków błony komórkowej) i czynników środowiskowych na proces oligomeryzacji hCC. Wpływ ligandów na strukturę drugorzędową hCC został opisany przy pomocy dichroizmu kołowego (CD), a wpływ ligandów na dimeryzację białka (początkowy etap procesu oligomeryzacji) za pomocą chromatografii wykluczenia (SEC). Analiza danych uzyskanych przy pomocy obu technik pozwoliła na wyznaczenie mimetyków błon biologicznych jako czynnika mającego największy wpływ na proces dimeryzacji hCC. Dalsze badania obejmowały opis i wizualizację oddziaływań zachodzących pomiędzy hCC i wybranymi mimetykami. Symulacje dynamiki molekularnej oraz technika miareczkowania z wykorzystaniem magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), pozwoliły ustalić które części białka hCC oddziałują z zastosowanymi modelami błon biologicznych.

Opis procesu oligomeryzacji hCC i czynników wpływających na jego przebieg stanowi dobry punkt wyjścia do opisu bardziej zaawansowanych procesów prowadzących bezpośrednio do wystąpienia chorób amyloidogennych. Dlatego badania zaprezentowane w niniejszej pracy skupiają się na opisie oddziaływań pomiędzy ludzką cystatyną C i różnorodnymi ligandami (np. przeciwciałami, mimetykami błon biologicznych) wykazującymi potencjał promujący lub hamujący względem procesu oligomeryzacji hCC. Wyniki przeprowadzonych badań dostarczyły istotnych informacji dotyczących formowania się toksycznych, chorobotwórczych oligomerów i fibryli amyloidowych dzięki czemu mogą być pomocne przy projektowaniu przyszłych strategii terapeutycznych przeciwko amyloidozom.