

mgr Marta Sosnowska  
Katedra Chemii Biomedycznej  
Wydział Chemii  
Uniwersytetu Gdańskiego

**Streszczenie pracy doktorskiej mgr Marty Sosnowskiej  
zatytułowanej „Badania fibrylizacji ludzkiego osoczowego białka amyloidu A oraz jego  
krótkich *N*-terminalnych fragmentów.”**

Amyloidozy to niejednorodna grupa chorób charakteryzujących się zewnątrzkomórkowym gromadzeniem się niepoprawnie sfałdowanych białek w postaci fibryli amyloidowych, zwanych także płytkami lub złoгами amyloidowymi. Znanych jest ponad 25 typów białka prekursorowego. Poszczególne typy amyloidu różnią się powinowactwem do narządów docelowych, wśród których najczęściej wymienia się nerki, wątrobę, układ sercowo-naczyniowy, przewód pokarmowy oraz obwodowy i autonomiczny układ nerwowy. W amyloidozie AA, w wyniku przewlekłe dużych stężeń w surowicy osoczowego białka amyloidu A (SAA), następuje odkładanie się złożeń amyloidowych. Jak dotąd nie opracowano skutecznego sposobu leczenia amyloidozy. Tworzenie fibryli amyloidowych odgrywa znaczną rolę w szeregu ludzkich chorób, dlatego bardzo istotne jest określenie czynników i specyficznych oddziaływań, które prowadzą do tego patologicznego procesu. W jego opracowaniu pomóc może wyjaśnienie przyczyn oraz mechanizmu agregacji ludzkiego osoczowego białka amyloidu A. Poznanie mechanizmów prowadzących do powstawania toksycznych fibryli jest niezwykle istotne dla diagnostyki, zapobiegania i zwalczania wszystkich amyloidoz. Stąd też moje zainteresowanie chorobami amyloidogennymi i podjęcie próby wytłumaczenia zjawiska powstawania amyloidoz na poziomie molekularnym. W niniejszej rozprawie przedstawiłam wyniki mojej pracy dotyczącej badań agregacyjnych osoczowego rekombinowanego białka amyloidu A rSAA1.1 oraz jego *N*-terminalnych fragmentów.

Szczegółowa analiza procesu agregacji peptydów wywodzących się z najbardziej amyloidogennego rejonu w białku SAA dostarczyła nowej wiedzy, która może być pomocna w wyjaśnieniu mechanizmu agregacji. Przeprowadzone przeze mnie badania *N*-terminalnych fragmentów SAA umożliwiły określenie ich tendencji do agregacji oraz morfologii tworzonych fibryli. Zaplanowane badania pozwoliły zweryfikować wpływ reszt aromatycznych i zaproponować

rodzaj oddziaływań (aromat-aromat, Arg-aromat, Asp-aromat), które mogą być kluczowe w procesie fibrylizacji peptydów SAA.

Określenie typu oddziaływań biorących udział w tworzeniu fibryli amyloidowych doprowadziło mnie do znalezienia inhibitorów (SAA1-5, A $\beta$ 17-20) patologicznego procesu agregacji *N*-terminalnych peptydów SAA i białka rSAA1.1 o pełnej sekwencji. Dodatkowo dowiodłam, że zastosowanie inhibitora w przypadku już zainicjowanego procesu fibrylizacji w dalszym ciągu może wywierać korzystny wpływ i prowadzić do zahamowania patologicznego procesu agregacji.

Wynik sączenia molekularnego wykonanego dla białka rSAA1.1 potwierdza natywnie oligomeryczną – heksameryczną formę białka, i wskazuje dwie potencjalnie możliwe ścieżki jego agregacji: 1. do tworzenia fibryli amyloidowych dochodzi przez asocjację wyższych form oligomerycznych, oraz 2. agregację poprzedza dysocjacja heksameru do monomerów, i to te cząstki ulegają następnie samoasocjacji.

Wymiana izotopowa proton→deuteron w połączeniu ze spektrometrią mas (HDXMS) została wykorzystana do zbadania mechanizmu tworzenia fibryli amyloidowych przez białko rSAA1.1. Podjęta przeze mnie próba analizy różnic strukturalnych dla natywnego i zagregowanego białka rSAA1.1 w oparciu o badania HDXMS wskazuje, że w proces fibrylizacji zaangażowany jest *N*-terminalny fragment białka (1-18). Analiza HDXMS potwierdziła oddziaływania inhibitora - peptydu SAA1-5 z *N*-terminalnym rejonem białka (1-8), co jest kolejnym dowodem, że rejon ten jest kluczowy w tworzeniu oddziaływań promujących agregację SAA.

Różnorodność stosowanych technik badawczych (badania fibrylizacji w obecności barwnika – tioflawiny T, FTIR, chromatografia powinowactwa, sączenie molekularne, HDXMS) pozwoliła mi znaleźć odpowiedź na pytanie jak może przebiegać proces samoorganizacji białka rSAA1.1 oraz

w jaki sposób i jakimi czynnikami można go spowolnić/zatrzymać. Dodatkowo identyfikacja motywu istotnego w fibrylizacji SAA potwierdza prawdziwość koncepcji oddziaływań aromatycznych jako siły wiodącej w powstaniu amyloidu i może być dobrym kierunkiem poszukiwań leków na amyloidozę.

Wyniki niniejszej pracy prowadzą do pogłębiania wiedzy o strukturze i molekularnych podstawach mechanizmu tworzenia fibryli amyloidowych przez ludzkie białko rSAA1.1. Ponadto, mogą pomóc w opracowaniu nowych narzędzi do walki z chorobami amyloidogennymi.