

Procesy asocjacji niepoprawnie zwiniętych białek i peptydów mogą prowadzić do silnie ustrukturyzowanych, β -karkowych agregatów zwanych amyloidami. Wciąż słabo poznane zjawisko amyloidogenezy powiązane jest z szeregiem chorób degeneracyjnych – m.in. chorobą Alzheimera, Parkinsona, cukrzycą typu II, czy też tak zwanymi „chorobami prionowymi”. Spontanicznej konwersji w amyloid ulega m.in. insulina, co znacząco ogranicza okres ważności opartych o ten hormon farmaceutyków. Mimo wielu wysiłków badawczych wciąż nie jest w pełni zrozumiany mechanizm przemian konformacyjnych prowadzących od biologicznie funkcjonalnej, natywnej insuliny do jej dysfunkcyjnego agregatu. Wcześniej badania współprowadzone w Laboratorium Chemii Biofizycznej Wydziału Chemii UW doprowadziły do identyfikacji superamyloidogennego dwułańcuchowego fragmentu insuliny (peptydu H), jaki jest uwalniany w trakcie częściowej proteolizy insuliny przez pepsynę [Piejko, 2015]. Izolacja peptydu H rzuciła nowe światło na mechanizm agregacji insuliny.

Prowadzone w ramach mojego doktoratu badania skupiały się na tym nowoodkrytym, wybitnie amyloidogennym fragmencie insuliny. Ich zasadniczym celem było zrozumienie fizykochemicznych i molekularnych uwarunkowań prowadzących do bardzo silnej skłonności peptydu H do agregacji. Ze względu na szereg wyjątkowych cech fragmentu H (m.in. fakt, iż powstaje w sposób analogiczny do zależnej od proteolitycznej aktywności pewnych enzymów drogi uwalniania peptydu A β , powiązanego z chorobą Alzheimera) badania jego amyloidogenezy mają bardzo duże znaczenie teoretyczne i praktyczne i mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia mechanizmów patologicznej agregacji białek. W ramach prowadzonych badań starano się odpowiedzieć na dwa zasadnicze pytania:

(1) Czy niezwykle szybka kinetyka samoorganizacji peptydu H w amyloid jest przede wszystkim konsekwencją niskich barier na drodze przemian konformacyjnych towarzyszących nukleacji agregatu?

(2) Które elementy struktury peptydu H odpowiadają za jego amyloidogenne właściwości?

Odpowiedź na pierwsze pytanie uzyskano dzięki przeprowadzonym badaniom mechanizmu agregacji peptydu H. Kinetyka typowego procesu amyloidogenezy jest ograniczona przez pierwszy etap agregacji, związany z powstawaniem tzw. amyloidowych zarodków. Bardzo krótki czas nukleacji obserwowany w kinetykach amyloidogenezy peptydu H sugerował, że zarodki H zbudowane są z bardzo niewielkiej liczby monomerów. Hipotezę tę potwierdziła analiza przebiegów kinetycznych oparta o algorytm *AmyloiFit*, dzięki któremu

ustalono, że zarodek peptydu H zbudowany jest z zaledwie dwóch monomerów. W celu uzyskania odpowiedzi na drugie pytanie zbadano amyloidogenne właściwości różnych syntetycznych peptydów, zaprojektowanych na bazie sekwencji peptydu H. Ustalono w ten sposób, że N-końcowy fragment łańcuch A insuliny (obejmujący sekwencję GIVEQ) ma kluczowe znaczenie dla zachowania amyloidogennych właściwości peptydu H. Co ciekawe, fragment GIVEQ zawiera reszty aminokwasowe, które zdaniem wielu autorów są niezbędne dla efektywnego działania insuliny jako hormonu. Badania przeprowadzone w ostatniej fazie mojego doktoratu wykazały dodatkowo, że N-końcowy fragment łańcucha A insuliny jest łatwo adaptowalnym, amyloidogennym segmentem, mogącym ułatwiać agregację różnych chimerycznych peptydów, których jest częścią. Jednym z takich peptydów opisanych w mojej pracy, jest peptyd ACC₁₋₁₃K₈, który okazał się mieć niezwykle interesującą właściwość, polegającą na stechiometrycznej i selektywnej inkorporacji ATP.