

Povzetek

Prionske bolezni so skupina neozdravljivih nevrodegenerativnih bolezni, ki nastanejo zaradi spremembe naravno prisotne oblike prionskega proteina (PrP) v patološko izoobliko, PrP^{Sc}. PrP je na celično membrano vezan preko glikozilfosfatidilinozitolnega (GPI) sidra, njegova vloga pri podvojevanju in širjenju PrP^{Sc} pa ostaja nepojasnjena. Prisotnost skrajšanih oblik PrP in PrP brez GPI-sidra pospeši tvorbo in pomnoževanje prionov *in vivo*. Le-te se pojavljajo v možganih ter v drugih tkivih in telesnih tekočinah, zato povečajo tveganje za prenos prionskih bolezni med vrstami. Jansen in sodelavci so poročali o dveh kliničnih primerih odlaganja na C-koncu skrajšanih oblik PrP, ki se končata s Tyr225 oziroma Tyr226 (1). Sočasno z omenjeno objavo smo določili epitop za monoklonsko protitelo V5B2, ki specifično prepozna PrP, ki se konča z aminokislinskim ostankom Tyr226, in to obliko PrP poimenovali PrP226*. Z uporabo monoklonskega protitelesa V5B2 smo dokazali, da se PrP226* odlaga v večini vrst človeških in živalskih TSE. Da bi dobili vpogled v razloge za vključevanje in razporeditev proteina v agregate PrP, smo določili NMR-strukturo rekombinantne oblike PrP226*.

Struktura proteina je sestavljena iz nestrukturiranega N-konca (ostanki 90–125) in strukturiranega C-konca (ostanki 126–226). C-konec je sestavljen iz štirih α -vijačnic in dveh antiparalelnih β -trakov. Naš model predvideva, da skrajšanje proteina na C-koncu za 5 aminokislinskih ostankov povzroči prekinitev vijačnice α_3 in tvorbo dveh krajših vijačnic, reorganizacijo hidrofobnih interakcij med α_3 in zanko β_2 - α_2 ter večjo izpostavitv hidrofobnih ostankov toplu.

Da bi pridobili več informacij o vlogi PrP226* v razvoju prionskih bolezni, smo določili še termodinamske lastnosti proteina ter analizirali kinetiko *in vitro* pretvorbe prionskega proteina v amiloidne fibrile. Ker PrP226* ni edina na C-koncu skrajšana oblika PrP, ki povzroča nastanek bolezni, smo pripravili in analizirali še štiri druge PrP, podobne PrP226*. Pripravili smo PrP224*, PrP225*, PrP227* in PrP228*, ki se končajo z Ala224, Tyr225, Gln227 oz. Arg228. Glede na dobljene rezultate ugotavljamo, da so termodinamske in kinetične lastnosti različic PrP odvisne od pH in skrajšanja verige. Ugotovili smo, da je najkrajši PrP najbolj destabiliziran in najhitreje tvori fibrile. Druge oblike so imele primerljivo ali manjšo stabilnost v kisli raztopini, a so imele kljub temu daljši čas pretvorbe kot divji tip PrP.

Naši rezultati kažejo, da ima sprememba v dolžini proteina za samo 1 aminokislinski ostanek velik vpliv na pretvorbo PrP *in vitro*. Strukturni model PrP226* skupaj z ostalimi rezultati podaja informacijo o možni vlogi PrP226* in sorodnih molekul v razvoju amiloidnih bolezni in lahko služi kot osnova za razvoj pristopov za preprečevanje in zdravljenje prionskih bolezni.

Ključne besede: prionski protein, PrP226*, NMR-struktura, fibrilizacija