

Povzetek

Agregacija proteinov v amiloidna vlakna predstavlja izziv za biotehnološke aplikacije in je vpletena v številne neozdravljive bolezni, kot so nevrodegenerativne bolezni, transtiretinska amiloidoza in sladkorna bolezen tipa II. Amiloidi so stabilni proteinski agregati s specifično zgradbo prepletenih β -plasti imenovano β -sterična zadruga. Njihovo nastajanje vključuje različne vmesne strukture, kot so kapljice fazne separacije tekoč-tekoče (LLPS), oligomeri in protofibrili.

Na agregacijo vplivajo notranji in zunanji dejavniki, kot so pH, temperatura, strig, koncentracija in prisotnost sotopljencev. Z uporabo različnih sotopljencev lahko vplivamo na specifične interakcije v raztopini proteinov in na ta način odkrijemo nove potencialne spojine za zaviranje agregacije. Amfifilni protein kot je β -laktoglobulin (BLG), je široko dostopen protein mlečne sirotke in zaradi visokega deleža β -struktur predstavlja dober model za študij amiloidov.

Pri pH 2 in uporabi glicina kot pufra sem pri 80 °C odkril nov mehanizem fibrilizacije BLG-ja, ki vključuje LLPS, prerazporeditev α -vijačnice in manjšo stopnjo razgradnje s kislinsko hidrolizo. Nastali so heksamerni oligomeri, nanotube in fibrili ter LLPS kaplje stabilizirane z mehкими mikrogelnimi delci.

Pri pH 7 in visoki temperaturi (80 °C) na novo izpostavljena skupina cisteina tvori inter-molekularne disulfidne mostičke, ki preprečijo nastanek amiloidnih fibril. Pri nižji temperaturi (50 °C) je bila reaktivnost prostega tiola nižja in BLG je namesto tega tvoril proteinske vezikle, mikrotrakove in barvne fotonske kristale, ki so nastali iz LLPS kapljic. Strukturna analiza nakazuje na urejeno povezovanje α -vijačnic in α -sterično zadrugo.

To delo predstavlja drugačen pogled na amiloidno fibrilizacijo, saj skupaj poveže vse procese od LLPS, oligomerizacije, nastanka veziklov, fibril in vsebnost različnih tipov sekundarnih struktur. Zaradi nove teorije se ponudijo nove ideje za razvoj zdravil in boj proti nevrodegeneraciji ter načrtovanju novih biomaterialov. Strukture, pridobljene iz BLG-ja, obetajo tudi na področju fotonskih kristalov, posnemajo tvorbo zobne sklenine in imajo velik potencial za dostavo zdravil, na področju senzorjev, premazov ter za uporabo v optičnih napravah.

Ključne besede: β -laktoglobulin, amiloidni fibrili, polimorfizem, so-topljenci, fazna separacija, amfifilnost, proteinski vezikli, tiolne skupine, mikroskopija, agregacija, fotonski kristali