

Streszczenie

RAGE (receptor końcowych produktów zaawansowanej glikacji) jest wieloligandowym receptorem błonowym. Po połączeniu liganda z receptorem RAGE następuje aktywacja wielu szlaków sygnałowych wewnątrz komórki, które związane są z różnorodnymi stanami patologicznymi. Postuluje się udział receptora RAGE i białek z nim oddziałujących w postępie wielu schorzeń, m. in.: powikłania cukrzycowe (ligand: końcowe produkty glikacji), chorobie Alzheimera (ligand: peptyd A β), reumatoidalnym zapaleniu stawów (białko S100A12), przerzutów nowotworowych (białko S100P). Zewnątrzkomórkowy receptor zbudowany jest z trzech domen: V – od 23 do 116 aminokwasu, C1 – od 124 do 221, C2 – od 227 do 317. Badania dowiodły, że za oddziaływanie z ligandami głównie odpowiedzialna jest część V, a domena C1 jest niezbędna do stabilizacji struktury. Receptor RAGE 23 - 317 nie jest stabilny, gdyż posiada miejsca rozpoznawane przez powszechnie występujące proteazy. Stabilną formą jest natomiast mini domena RAGE 23 – 143, która w przyszłości będzie wykorzystana jako jeden z aktywnych analitycznych elementów w bioczuJNIKACH elektrochemicznych wykorzystywanych do analizy obecności ligandów w płynach fizjologicznych. Czujniki te posłużą do wczesnego wykrywania choroby, a co za tym idzie do wczesnego rozpoczęcia terapii. Przed zastosowaniem domeny RAGE 143 w bioczuJNIKACH należy przebadać jej stabilność oraz powinowactwo do wybranych bioligandów. Mini domena RAGE 143 będzie prawdopodobnie odpowiedzialna za oddziaływanie z peptydem A β i końcowymi produktami glikacji białek.

Celem mojej pracy jest optymalizacja metody ekspresji w bakteriach *E. coli* rekombinowanego fragmentu 23-143 receptora RAGE dzikiego i mutantu (negatywny wynik odczytu czujnika), a także sprawdzenie stabilności oraz zbadanie struktury tych mini domen za pomocą różnorodnych technik, m.in. poprzez analizę szybkości wymiany w cząsteczce protonu na deuter przy pomocy spektrometrii mas (HDexMS), dichroizmu kołowego i miareczkowanie fluorescencyjnego. Otrzymane wyniki posłużyły do stwierdzenia, że tak wyizolowane mini domeny receptora RAGE 143 są stabilne i posiadają cechy struktury podobne do cech obserwowanych w pełnej zewnątrzkomórkowej domenie 23 – 317. Wyniki te wykorzystane zostaną do stworzenia bazy porównawczej z danymi uzyskanymi w przyszłości dla kompleksu receptor RAGE- peptyd AB i określenia miejsca kontaktu białek.