



Асоциация на бестрофин-1 с мембранни домени в моделни монослоеве и епителни клетки - предпоставка за иновативни терапии за дегенерации на ретината

Финансираща организация: Фонд Научни Изследвания

Договор № КП-06-Н23/7, 18.12.2018 г.

Продължителност: 2018-2021

Базова организация: СУ „Св. Кл. Охридски“

Партньорска организация: Институт по полимери, БАН

Привлечени средства: 84 000 лв. (общо 120 000)

Участници в колектива на базовата организация:

Доцент доктор Йордан Атанасов Думанов, БФ, СУ (ръководител)

Професор доктор Светла Димитрова Петрова-Чанкова, БФ, СУ

Доцент доктор Таня Иванова Топузова-Христова, БФ, СУ

Доцент доктор Веселина Светославова Москова-Думанова, БФ, СУ

Професор доктор Силвия Здравкова Чернинкова, Медицински университет, София

Доцент доктор Тоня Димитрова Андреева, ИБФБМИ, БАН

Главен асистент доктор Кирилка Стефанова Младенова, БФ, СУ

Асистент Павел Веселинов Видев, БФ, СУ

Асистент Никола Йорданов Младенов, МУ, София

Доктор Кунка Николова Каменарова, МУ, София

Професор Луц Грее, Университетът на Хохенхайм, Щутгарт, Германия

Професор Шоми Батачария, CABIMER, Севиля, Испания

Анотация:

Молекулярните взаимодействия в клетъчните мембрани при физиологични условия са фундаментални за преноса на материя, енергия и информация, за поддържане целостта и жизнения цикъл на клетките. Познанията за структурата, организацията и топологията на мембранните белтъци и липиди са предпоставка за установяване на динамиката на междуклетъчните взаимодействия, специфичността и механизмите на сигналните пътища в клетките. Човешкият бестрофин-1 (hBest1) е трансмембранен белтък, представител на Ca²⁺-зависимите анионни транспортни канали, който се експресира главно в мембраните на ретиналния пигментен епител (РПЕ) и нервни клетки, с все още ненапълно изяснена и дискуссионна функция. Мутации в гена BEST1, кодиращ hBest1 в ретиналния пигментен епител, са отговорни за генерализирани увреждания на ретината, известни като бестрофинопатии, едно от които е Болестта на Бест (BVMD – вителиформна макулна дегенерация на Бест) – втората най-разпространена и все още nelечима форма на наследствена дегенерация на макулата в младежка възраст. Нова биологична роля на hBest1 като невротрансмитерен канал с голям социален ефект е предположена през 2017 г., когато е установено участието му в патологията на различни невродегенеративни заболявания като болестите на Алцхаймер и Паркинсон, епилепсия и др. До момента не са изяснени: функционално активната организация

и структура на hBest1; конформационната му динамика и ориентация; механизмите на взаимодействие, сортиране и специфично свързване с липидни домени в епителните клетъчни мембрани; участието в клетъчната поляризация; влиянието върху пролиферацията и диференциацията на клетките; взаимодействия с други екстра- и интрацелуларни белтъци и фармакологично активни агенти, отключващи различни сигнални пътища и тяхната регулация; молекулярните механизми на патологичните състояния, и др., което определя интереса, значимостта и актуалността на фундаменталните изследванията с йонния канал hBest1 в световен мащаб. Поради експресията на hBest1 основно в ретинални пигментни клетки, този тип изследвания станаха възможни едва след използването на молекулярно-биологичен подход от нашата група, състоящ се в създаване и въвеждане на оригинална методика за получаване и пречистване на функционално активен човешки рекомбинантен hBest1 от стабилно трансфектирани еукариотни клетки. Основната цел на проекта е изследване на взаимодействията на hBest1 и негови мутантни форми, причиняващи BVMD с мембранни домени (рафтови и нерафтови липиди и белтъци) и фармакологично активни агенти, както чрез клетъчни култури, така и чрез моделни мембранни системи, което предоставя необходимите фундаментални познания за прилагане на иновативни терапии чрез използване на наноструктури, представляващи бислойни полимер-липидни дискове, липозоми и биконтинуални структури или полимерни наноразмерни частици за интеркалиране на hBest1 в клетъчната мембрана и възстановяване на транспортните ѝ функции. Интердисциплинарният подход в настоящия изследователски проект изисква и използва: биохимични, молекулярни и клетъчнобиологични експерименти, чрез които ще се изследват механизма на сортиране и свързване на hBest1 и негови мутантни форми с липидните рафтове в еукариотни клетки, участието им в клетъчната поляризация, пролиферацията и диференциацията на епителни клетки (в присъствие/отсъствие на различни йони, биологично и фармакологично активни агенти) и ролята им за патогенезата на болестта на Бест. Ще се изследват сортиращите сигнали на hBest1, отговорни за правилния транспорт на белтъка в полярни клетки, и промените в клетъчната локализация на различните мутанти на hBest1. Експериментите с моделни мембранни системи (монослойни и бислойни моделни мембрани, в комбинация с физични и физикохимични методи - BAM, AFM, PM-IRRAS и др.), ще позволят количествено да се изследват и характеризират: селективните взаимодействия на hBest1 (и негови мутантни форми) с "рафтови" и "нерафтови" липиди; конформационните състояния и функционалната динамика на hBest1 в мембраните при различен липиден състав, температура, липидно фазово състояние, присъствие на йони и биологично и фармакологично активни агенти. Оригиначните резултати и успешното реализиране на изследователски проект, ще предоставят актуален модел за молекулярния механизъм на действие на hBest1, който ще открие възможности, както за изследване на патогенезата на болестта на Бест, така и за използването на нанотехнологиите за подобряване качеството на живот на засегнатите индивиди.

Ключови думи: hBest1, Клетъчна поляризация, Липидни рафтове, нанодискове, липозоми, монослойни и бислойни моделни мембрани