

Abstract in polish

Ferrytyna jest obecna w prawie wszystkich królestwach życia i jest odpowiedzialna za przechowywanie i regulację homeostazy żelaza wewnątrz komórki. Ferrytyna tworzy strukturę przypominającą klatkę o wielkości 12 nm z pustą wnęką o wielkości 8 nm. Wnęka ta może być wykorzystywana do różnych celów, takich jak enkapsulacja wrażliwych cząsteczek leków, do wyświetlania antygeny (szczepionki), środka kontrastowego MRI, kropek kwantowych itp. Istnieje jednak zasadnicze ograniczenie związane z ludzkimi/tradycyjnymi ferrytynami: nie można ich łatwo otwierać i zamykać, i zwykle wymagają one ostrej obróbki chemicznej, która nie jest odpowiednia dla wrażliwych cząsteczek ładunku. W pierwszej części pracy badałem niedawno odkrytą ferrytynę *Thermotoga maritima* (TmFtn) i zaprojektowałem ją pod kątem zróżnicowanego montażu i stabilności. Dimer TmFtn typu dzikiego wymaga 50 mM $MgCl_2$ do złożenia się w kompletną 24-merową strukturę przypominającą klatkę. Dzięki analizie strukturalnej i bioinformatycznej dzikiego typu TmFtn zidentyfikowano kluczową pozycję E65 między interfejsem dimerycznym. Zmiana pojedynczej reszty w tej pozycji może zmienić cały montaż klatki i zachowanie stabilności. Stworzono pięć wariantów i dwa z nich (E65K i E65R) wykazały montaż bez żadnych zewnętrznych wyzwalaczy (metale/sól/ $MgCl_2$). Podczas gdy trzy mutacje (E65A, E65D i E65Q) wykazały montaż w niższym stężeniu $MgCl_2$ (10 mM). Te zmodyfikowane klatki są zdolne do enkapsulacji cząsteczek ładunku w łagodnych warunkach bez zakłócania natywnej funkcji (tj. mineralizacji żelaza). Aby zrozumieć mechanizm montażu klatek, mutanty te zostały scharakteryzowane przy użyciu analitycznego SEC, natywnego PAGE, krystalografii rentgenowskiej i obrazowania TEM. DNA origami, ze swoją zdolnością do projektowania i konstruowania szerokiej gamy struktur 2D i 3D, oferuje wysoce programowalne podejście. Jednak jego zdolność do enkapsulacji małych cząsteczek w sposób wolny od wycieków jest ograniczona. Z drugiej strony, ferrytyna, klatka białkowa, może skutecznie hermetyzować wiele małych cząsteczek terapeutycznych o dużej gęstości, ale jej modyfikowalność jest ograniczona przez czynniki takie jak jej wysoka symetria. W drugiej części pracy magisterskiej połączyłem te dwa podejścia, tworząc hybrydową strukturę, która wykorzystuje mocne strony obu. Otwarty pojemnik DNA origami może specyficznie wiązać pojedynczą zmodyfikowaną ferrytynę przenoszącą ładunek w swojej wnęce. Osiąga się to poprzez parowanie zasad między jednoniciowymi sekwencjami DNA w origami DNA i komplementarnymi sekwencjami przyłączonymi do powierzchni ferrytyny za pomocą bezmiedziowej chemii kliknięć. Wymiary struktury rękawicy DNA origami wynoszą 40 nm × 40 nm × 14 nm z centralną wnęką 20 nm × 20 nm × 11 nm.

Wytworzona struktura rękawicy i koniugatu DNA została potwierdzona za pomocą testu żelowego oraz bezpośredniej obserwacji za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM) i transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM).