



VILNIAUS UNIVERSITETAS  
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS  
GYVYBĖS MOKSLŲ KATEDRA

Biochemijos magistro studijų programos II kurso studentas

Darius ŠULSKIS

---

S100A9 BALTYMO STABILUMO IR AGREGACIJOS  
TYRIMAS

---

BAIGIAMASIS DARBAS

Darbo vadovas:

Dr. Vytautas SMIRNOVAS

VILNIUS, 2017

VILNIAUS UNIVERSITETAS  
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS  
GYVYBĖS MOKSLŲ CENTRAS

Biochemijos magistro studijų programos II kurso studentas

Darius Šulskis

BAIGIAMASIS MAGISTRO DARBAS

---

## S100A9 AGREGACIJOS IR STABILUMO TYRIMAS

---

### SANTRAUKA

S100A baltymų šeima dalyvauja įvairiuose ląstelės procesuose: proliferacijos, išgyvenimo, judėjimo ir uždegiminių signalų perdavimo. Dėl įvairių šių baltymų funkcijų, jie dažnai siejami su įvairiomis ligomis, įskaitant vėžinius susirgimus ir neurodegeneratyvinius sutrikimus. Neseniai buvo atrasta, kad S100A9 baltymas agreguoja į amiloidines fibriles ir potencialiai gali būti svarbus Alzheimerio ir Parkinsono ligose. Panašiai kaip ir kitų S100A baltymų šeimos atstovų, S100A9 baltymo stabilumas yra reguliuojamas kalcio jonų. Tačiau, kol kas yra mažai žinoma kaip tiksliai kalcis stabilizuoja S100A9 baltymą ir kaip vyksta S100A9 virsmas į amiloidines fibriles.

S100A9 terminis stabilumas buvo matuojamas diferencinio skenavimo fluorimetrijos metodu. Kalcio jonų sąveika su S100A9 nustatyta izoterminio titravimo kalorimetru. Agregacijos kinetika matuota pagal Tioflavino T (ThT) dažo fluorescenciją. Susidariusios fibrilės stebėtos atominės jėgos mikroskopu ir jų amiloidinė prigimtis patikrinta specifiniais A11 ir OC antikūnais.

Tyrimo metu buvo nustatyta, kad kalcis eksponentiškai didina S100A9 baltymo terminį stabilumą. Titravimo rezultatai parodė, kad kalcis incijuoja baltymo termodinaminius pokyčius keliomis stadijomis, bet reikėtų detalesnių tyrimų, norint iširti įvairias baltymo būsenas. Agregacijos tyrimai atskleidė, kad S100A9 lengvai agreguoja į amiloidines fibriles įvairiomis sąlygomis, kalcis slopina agregaciją ir, kad S100A9 gali skatinti  $\alpha$ -sinukleino amiloidinių fibrilių susidarymą.

VILNIUS, 2017

VILNIUS UNIVERSITY  
FACULTY OF CHEMISTRY AND GEOSCIENCES  
LIFE SCIENCES CENTER

2nd year student of Biochemistry Msc

Darius Šulskis

MASTER THESIS

---

# AGGREGATION AND STABILITY OF S100A9 PROTEIN

---

## SUMMARY

S100 family proteins are involved in different cell activities: proliferation, survival, movement, inflammatory signalling and reproduction. Because of the wide range of functions, these proteins can be associated with many diseases, including cancer and neurodegenerative disorders. There are reports showing that S100A9 protein can aggregate into amyloid fibrils and is possibly involved in Alzheimer's and Parkinson's diseases. Similar to other members in S100 family, S100A9 stability can be regulated by calcium, however there is too little information on how calcium ions affect S100A9 protein stability and even less how S100A9 aggregates into amyloid-like structures. Therefore we decided to investigate these properties.

Thermal unfolding of the protein was monitored using ANS fluorescence assay. Calcium-protein binding events were studied using isothermal titration calorimetry (ITC). Aggregation kinetics of S100A9 were observed using Thioflavin-T (ThT) fluorescence assay. Formed amyloid-like fibrils were observed using atomic force microscopy and the nature of fibrils was confirmed using specific A11 and OC antibodies.

Results show, that calcium exponentially increases protein thermal stability and inhibits the rate of aggregation. ITC data suggests, that calcium binds to multiple sites and induces conformational changes of the protein structure, however more detailed research is needed to identify different protein states. Overall aggregation experiments revealed that S100A9 easily forms amyloid fibrils and can influence Alpha-synuclein aggregation, which is related to Parkinson disease.

VILNIUS, 2017