

Molekularne podstawy swoistości zarodźców malarii (*Plasmodium*).

Malaria to choroba wywoływana przez pasożytnicze pierwotniaki – zarodźce z rodzaju *Plasmodium* przenoszone przez samice komara widliszka (*Anopheles*). Tylko pięć gatunków zarodźca zdolnych jest do zakażenia ludzi, a najbardziej zjadliwy z nich, *Plasmodium falciparum*, wyraźnie różni się od pozostałych. Należy on do podrodzaju *Laverania* wraz z pasożytami zakażającymi małpy naczelne, a najbliższe spokrewnione z nim gatunki to szympansi *P. reichenowi* oraz goryli *P. praefalciparum*. Pomimo wysokiego podobieństwa genetycznego tych gatunków, charakteryzują się one wysokim stopniem specyficzności względem gospodarza. Główne różnice zaobserwowano w genach związanych z etapem inwazji erytrocytów przez merozoity zarodźca i etap ten uważany jest za najbardziej znaczący w rozwoju *Plasmodium*. Jednym z ważniejszych białek biorących udział w tym procesie jest ligand EBA-140. Jego receptorem na komórkach ludzkich jest Glikoforyna C, a homolog *P. reichenowi* rozpoznaje na szympansiach erytrocytach Glikoforynę D, która jest skróconą formą Glikoforyny C. Wiązanie EBA-140 do erytrocytów jest zależne od kwasów sjałowych, których rodzaj na erytrocytach ludzkich i małpich różni się. Różnica w ekspresji kwasów sjałowych na powierzchni komórek ludzkich i małpich została zaproponowana jako wyjaśnienie ścisłej specyficzności zarodźców wobec gospodarza.

Celem prezentowanego projektu doktorskiego było sprawdzenie teorii proponującej, że u podstaw gatunkowej swoistości pasożytów *Plasmodium* leży różnica swoistości ligandów EBL wobec SA, w tym też w odniesieniu do liganda EBA-140. Do badań wykorzystano rekombinowane, pełne ektodomeny homologów EBA-140 z trzech gatunków zarodźca (*P. falciparum*, *P. praefalciparum* i *P. reichenowi*) zakażające kolejno człowieka i małpy człekokształtne, które wiązano do dwóch kwasów sjałowych: Neu5Ac, który jest głównym SA ludzkim, i Neu5Gc, którego ekspresja przeważa na komórkach małpich. Swoistość wiązania rekombinowanych ektodomen homologów EBA-140 względem kwasów sjałowych została przebadana z wykorzystaniem metod powierzchniowego rezonansu plasmonowego (SPR) i interferometrii warstwowej (BLI). Potwierdziłam, że wszystkie trzy homologi EBA-140, w tym ludzki *P. falciparum*, rozpoznają oba kwasy sjałowe, ale ich wiązanie jest mocniejsze do kwasu Neu5Gc nieobecnego naturalnie na ludzkich komórkach.

Ponadto, otrzymałam linie transgeniczne *P. falciparum in vitro*, w których dezaktywowałam ligand EBA-140 oraz zamieniłam jego region wiążący RII na region wiążący RII pochodzący z homologa EBA-140 gorylego *P. praefalciparum*. Analizowałam zmiany w tempie wzrostu tych linii oraz poziomie inwazji erytrocytów trawionych neuraminidazą i chymotrypsyną. Wykazałam, że zamiana regionu RII ludzkiego zarodźca na RII rozpoznający małpie erytrocyty osłabia wiązanie merozoitów do erytrocytów ludzkich na podobnym poziomie, jak w przypadku dezaktywacji liganda EBA-140. Ponieważ jednak, nie jest on kluczowym białkiem biorącym udział w inwazji erytrocytów jego zmiana lub dezaktywacja nie zmieniają znacząco poziomu inwazji, co sugeruje, że proces inwazji jest wieloczynnikowy, a ligandy potrafią wzajemnie kompensować brak jednego z nich.

Ze względu na bliskie pokrewieństwo ewolucyjne między ludźmi i małpami człekokształtnymi oraz zarodźcami *P. falciparum*, *P. praefalciparum* i *P. reichenowi* poznanie mechanizmów ich inwazji erytrocytów pozwala na zrozumienie podstaw swoistości, a także procesów

ewolucyjnych, które zaszły na przestrzeni wieków i pozwoliły *Plasmodium* dostosować się do nowego, ludzkiego gospodarza.