

Podsumowanie głównego osiągnięcia naukowego

*Charakterystyka oddziaływań pomiędzy wybranymi białkami powierzchniowymi krętków *Borrelia* i białkami kleszczy oraz kręgowców*

Krętki z rodzaju *Borrelia* powodują niebezpieczną chorobę nazywaną boreliozą, chorobą z Lyme lub krętkowicą kleszczową. Jest to najczęściej występująca w Europie i Ameryce Północnej choroba odkleszczowa. Diagnostyka i terapia boreliozy jest utrudniona ze względu na to, że do rodzaju *Borrelia* należą liczne gatunki krętków wykazujące zróżnicowanie serologiczne i powinowactwo do różnych tkanek, powodując mało specyficzne objawy zakażenia. Serologiczne zróżnicowanie *Borrelia* wynika z dużej ilości białek powierzchniowych występujących w wielu wariantach, zależnie od gatunku i szczepu bakterii. Białka na powierzchni krętka tworzą swego rodzaju interfejs o zmiennej kompozycji, dopasowujący się do środowiska, w którym krętki aktualnie przebywają. Wykazują one niską homologię do białek z innych organizmów. Powyżej opisane cechy białek powierzchniowych czynią je trudnymi obiektami badań, co odzwierciedla się w słabej znajomości molekularnych podstaw pasożytniczego cyklu życiowego krętków *Borrelia*.

Celem niniejszego osiągnięcia naukowego jest pogłębienie wiedzy o interakcjach zachodzących między krętkiem *Borrelia*, wektorem i żywicielem na poziomie molekularnym. Cel ten realizowałam prowadząc wraz z zespołem badania oddziaływań pomiędzy białkami powierzchniowymi z krętków z grupy *Borrelia burgdorferi* s. l. oraz ich białkowymi ligandami z kleszczy i kręgowców. Obiektami moich badań były rekombinowane białka OspA i OspC z różnych gatunków krętków oraz natywny ludzki fibrynogen i rekombinowane białka TROSPA, Iric1, Iric2 i Iric3 z kleszcza *Ixodes ricinus*. W moich pracach stosowałam szerokie spektrum technik badawczych z zakresu biochemii, biologii molekularnej i strukturalnej, inżynierii genetycznej, biofizyki oraz bioinformatyki, dzięki czemu osiągnięcie naukowe zyskało charakter interdyscyplinarny.

Białko OspA wykazuje powinowactwo do białka TROSPA produkowanego przez komórki nabłonkowe jelita kleszcza. Dzięki oddziaływaniu między tymi dwoma białkami dochodzi do skolonizowania organizmu kleszcza przez krętki które dostają się do przewodu pokarmowego wektora wraz z krwią. W trakcie prowadzonych wykazałam, że TROSPA z europejskiego gatunku kleszcza *I. ricinus* oddziałuje z wariantami OspA z różnych gatunków *Borrelia*. Scharakteryzowałam też białko TROSPA jako białko inherentnie nieuporządkowane (IDP) z domeną transbłonową w rejonie końca aminowego i ujemnie naładowaną częścią w rejonie końca karboksylowego, zaangażowaną w oddziaływanie z OspA. TROSPA to pierwsze białko typu IDP uczestniczące w oddziaływaniu pomiędzy wektorem i patogenem.

Białko OspC jest produkowane przez krętka we wczesnej fazie infekcji i dzięki oddziaływaniom z wieloma różnymi ligandami pochodzącymi zarówno od kleszcza jak i od kręgowca odgrywa bardzo istotną rolę w ucieczce krętka przed atakiem ze strony układu immunologicznego kręgowca. Wyniki prowadzonych badań pozwoliły na zaproponowanie nowego ligandu białka OspC jakim jest fibrynogen. Oddziaływanie sklasyfikowałam jako silne i przeprowadziłam wstępną charakterystykę parametrów strukturalnych kompleksu białek w roztworze.

Kolejną grupą ligandów białka OspC które były obiektem prowadzonych przeze mnie badań są białka Iric 1 – 3 produkowane przez gruczoły ślinowe kleszcza. Białka z tej grupy wykazują silne właściwości immunosupresyjne i wykorzystywane są przez przenoszone przez kleszcze patogeny w celu zwiększenia szans przeżycia w organizmie żywiciela. W trakcie moich prac wykazałam, że białka OspC wykazują wysokie powinowactwo do homologów białek z grupy Iric, a rejon wiążący położony jest w pobliżu epitopów OspC rozpoznawanych przez przeciwciała anti-OspC.

Dodatkowo, prowadząc badania z zastosowaniem rekombinowanych form białek kleszczowych zademonstrowałam, że posiadają one właściwości immunogenne predestynujące je jako potencjalną szczepionkę chroniącą wolnożyjące zwierzęta przed zakażeniem krętkiem *Borrelia*.

Summary of the main scientific achievement

Studies of the interactions between selected outer surface proteins of Borrelia burgdorferi and proteins from ticks and vertebrates

Borrelia spirochetes cause a dangerous disease called Lyme disease or borreliosis. It is the most common tick-borne disease in Europe and North America. Diagnosis and therapy of borreliosis is difficult due to the fact that the *Borrelia* genus includes numerous spirochete species showing serological variability and affinity to different tissues, resulting in a low specificity of infection symptoms. The serological variability of *Borrelia* is due to the large number of surface proteins occurring in many variants, depending on the species and strain of the bacteria. The surface proteins form a kind of interface that adapts to the environment in which the spirochetes are currently present. They show low homology with proteins from other organisms. The above-described features of the surface proteins make them a difficult research subject and that is reflected in the poor understanding of the molecular basis of the *Borrelia* parasitic lifestyle.

The aim of this scientific achievement is to improve knowledge concerning the interactions among *Borrelia*, the vector, and the host at the molecular level. I carried out this objective by conducting studies of the interactions among the surface proteins from *Borrelia burgdorferi* s. l. group and their ligands from ticks and vertebrates. The subjects of my research were recombinant OspA and OspC proteins from different species of spirochetes, native human fibrinogen and recombinant proteins TROSPA, Iric1, Iric2, and Iric3 from the *Ixodes ricinus* tick. In my work, I used a wide range of research techniques in the areas of biochemistry, molecular and structural biology, genetic engineering, biophysics, and bioinformatics, due to which this scientific achievement became interdisciplinary.

OspA protein shows an affinity to TROSPA protein that is produced by the epithelial cells of a tick's gut. This interaction enables the spirochetes to colonize the vector tick during engorgement. In the course of my research, I showed that TROSPA from *I. ricinus*, the European tick species, interacts with variants of OspA from different *Borrelia* species. I also characterized the TROSPA protein as intrinsically disordered protein (IDP) with the transmembrane domain at the amine terminus and a negatively charged region at the carboxyl terminus involved in the interaction with OspA. TROSPA is the first IDP protein involved in the interaction between the vector and pathogen.

OspC protein is produced by the spirochete at an early stage of infection and, due to interactions with many different ligands from both the tick and the vertebrate, plays a very important role in *Borrelia* evasion from the vertebrate immune system. The results of my studies enabled me to propose that fibrinogen is a new OspC ligand. The interaction was classified as strong, and the preliminary characteristics of the structural parameters of the protein complex in the solution were carried out.

Another group of OspC protein ligands that were the subject of my research are Iric proteins produced by tick salivary glands. These proteins exhibit strong immunosuppressive properties and are used by tick-borne pathogens to increase the chances of survival in the host organism. In the course of my research, I have shown that OspC proteins have a high affinity to Iric protein homologues and that the binding region is located in close proximity to OspC epitopes that are recognized by anti-OspC antibodies.

In addition, when conducting studies using recombinant forms of tick-borne proteins, I demonstrated that they have immunogenic properties predetermining them as a potential vaccine to protect free-living animals from a *Borrelia* infection.