

## POPULARNONAUKOWY OPIS PROJEKTU

Szacuje się, że około 50 milionów ludzi na całym świecie cierpi z powodu demencji. Światowa populacja starzeje się, dlatego liczba przypadków wyniszczających i śmiertelnych chorób neurodegeneracyjnych takich jak choroba Alzheimera wciąż rośnie. Koszt leczenia przekroczył już 1% światowego PKB. Pomimo ogromu starań naukowych choroby te wciąż są nieuleczalne. Procesy neurodegeneracyjne ściśle wiążą się z agregacją cytotoksycznych białek zwanych amyloidami. Nieprawidłowa agregacja tych białek, która jest ściśle związana z etiologią chorób neurodegeneracyjnych, leży w centrum zainteresowań badawczych farmakologów, chemików, fizyków biologów i biofizyków. Niezwykle ważne jest dogłębne zrozumienie szlaków agregacji peptydów ponieważ może ono determinować strategię leczenia choroby.

W oparciu o wyniki wielu technik analitycznych takich jak spektrometria mas, krystalografia, dichroizm kołowy, spektroskopia w zakresie podczerwieni i magnetyczny rezonans jądrowy możliwe było monitorowanie zmian struktury drugorzędowej białek a dokładnie wzrostu zawartości struktury  $\beta$ -kartki podczas procesu agregacji. Wymienione metody pozwoliły również na modelowanie tylko hipotetycznych szlaków agregacji amyloidów, bezpośrednia weryfikacja nie była możliwa z powodu ograniczeń metodologicznych. Każda z wymienionych technik wymaga znacznych objętości próbki i zawsze dostarcza jedynie uśrednionej (z wielu cząsteczek) informacji o strukturze drugorzędowej. Ze względu na niejednorodność próbek amyloidów, które zwykle zawierają kuliste oligomery, niedojrzałe protofibryle, dojrzałe fibryle oraz niewielkie agregaty, takie jak dimery i tetramery, a także niezagregowane cząsteczki peptydu, dotychczas nie było możliwe śledzenie poszczególnych kroków agregacji amyloidów i dokładnie opisanie zmian w strukturze drugorzędowej w poszczególnych agregatach.

Projekt obejmuje dogłębne badanie szlaków agregacji amyloidu  $\beta$  - peptydu związanego z chorobą Alzheimera. Głównym zadaniem projektu będzie mapowanie rozkładu przestrzennego struktury drugorzędowej  $\beta$ -kartki w poszczególnych agregatach w skali nometrycznej, po raz pierwszy w warunkach naśladujących środowisko fizjologiczne (na syntetycznej błonie lipidowej, w buforze fizjologicznym). Wyniki pomiarów pozwolą na bezpośrednią weryfikację szlaków agregacji peptydu. Po dokładnej analizie metod, które mogą próbować strukturę molekularną pojedynczych oligomerów, protofibryli i fibryli wybrano spektroskopie Ramana wzmocnioną na ostrzu sondy skanującej (ang. Tip-enhanced Raman (TERS) spectroscopy), ponieważ spełnia ona wszystkie kryteria niezbędne do zrealizowania projektu, takie jak możliwość oznaczania struktury drugorzędowej białek, wysoka czułość (sięgająca pojedynczych cząsteczek chemicznych), nanometryczna rozdzielczość przestrzenna i możliwość wykonywania pomiarów w cieczach. TERS łączy nanometryczną zdolność rozdzielczą mikroskopii sił atomowych, oraz selektywność chemiczną spektroskopii Ramana i dlatego za pomocą TERS można badać strukturę chemiczną próbek z nanometryczną rozdzielczością przestrzenną. Fourierowska nanospektroskopia w zakresie podczerwieni (nanoFTIR) zostanie zastosowana jako technika komplementarna do TERS. Dodatkowo planuje się także monitorowanie w czasie rzeczywistym wpływu substancji antyagregacyjnych na konformację amyloidów poprzez wprowadzenie beksarotenu do buforu, w którym będą zanurzone agregujące peptydy. Niezwykle ważną część projektu stanowi badanie wpływu amyloidów na żywe neurony. Proponuję tutaj zastosować spektroskopię ramanowską i spektroskopię w zakresie podczerwieni, aby śledzić zmiany cząsteczkowe indukowane w komórkach osobno przez fibryle oligomery i protofibryle. Integralną częścią tych badań będzie znalezienie korelacji między cytotoksycznością amyloidów a ich strukturą drugorzędową.

Projekt wymaga wielu optymalizacji metod eksperymentalnych, w szczególności techniki TERS oraz zaimplementowania jej do pomiarów w cieczy. Zoptymalizowana metodologia w przyszłości będzie mogła znaleźć zastosowanie przez chemików, biologów i biofizyków do badania wielu delikatnych układów biologicznych, takich jak chemoterapeutyczne wiązanie się leków chemoterapeutycznych do DNA, tworzenie domen w cienkich warstwach lipidowych pod białek błonowych i wielu innych.

Przede wszystkim dzięki zrealizowaniu tego projektu znacznie poszerzymy wiedzę na temat nieprawidłowej agregacji peptydów Alzheimera oraz zmian molekularnych indukowanych w amyloidach przez substancje powstrzymujące agregacje. Zrozumienie na poziomie cząsteczkowym wpływu czynników wewnętrznych i zewnętrznych na proces agregacji jest absolutnie kluczowe dla opracowania skutecznych strategii terapeutycznych polegających na zahamowaniu procesu samoorganizacji. Wyniki proponowanego projektu będą miały znaczenie dla planowania nowych strategii leczenia choroby Alzheimera.