

## **Śledzenie mechanizmu fibrylizacji białka tau przez nanospektroskopowe profilowanie agregacji zależnej od struktury**

Choroba Alzheimerera jest najbardziej powszechną formą demencji (50–60% wszystkich przypadków demencji). Obecnie, ok. 50 milionów ludzi na całym świecie cierpi z powodu demencji, a globalny koszt gospodarczy związany jej leczeniem wyniósł w 2015 roku 818 miliardów dolarów, co stanowiło 1,09% światowego PKB. Ze względu na nieustannie wydłużającą się długość życia, prognozuje się znaczące nasilenie tego problemu. Oszacowano, że liczba przypadków demencji będzie podwajała się co 20 lat.

Obecność splątków neurofibrylarnych białka tau wewnątrz neuronów oraz pozaneuronalnych złogów amyloidu- $\beta$  w mózgu należą do głównych oznak klinicznych charakterystycznych dla neurodegeneracji związanej z chorobą Alzheimerera. Pomimo wieloletnich wysiłków naukowców reprezentujących różne dyscypliny, mechanizmy odpowiedzialne za pojawienie się agregatów w mózgu pozostają nieznane, a skuteczny lek nadal nie został wynaleziony.

Wobec tego jako główny cel niniejszego projektu proponuję zbadanie wpływu struktury wariantów białka tau na mechanizm agregacji. Zrozumienie mechanizmu agregacji białka tau jest niezwykle ważne, ponieważ umożliwi projektowanie skutecznych strategii terapeutycznych leczenia choroby Alzheimerera.

Badania nad mechanizmem agregacji białek neurodegeneracyjnych były dotychczas znacząco ograniczone ze względu na brak technik badawczych, umożliwiających zebranie informacji o strukturze pojedynczych cząsteczek białka. Postęp technik nanospektroskopowych poczyniony w ostatnich latach jest niezwykle korzystny ze względu na możliwość badania składu chemicznego na poziomie pojedynczych agregatów. Nanospektroskopia łączy czułość chemiczną konwencjonalnej spektroskopii (spektroskopii Ramana lub w podczerwieni) z rozdzielczością technik mikroskopii ze skanującą sondą. W tym projekcie proponuję wykorzystać spektroskopię Ramana wzmocnioną na ostrzu sondy skanującej (TERS - tip-enhanced Raman spectroscopy) jako najbardziej czułą technikę umożliwiającą badanie struktury chemicznej poszczególnych agregatów białka tau w nanoskali przez wykrywanie lokalnych zmian w ich konformacji przestrzennej. Jako niezależną, komplementarną metodę proponuję zastosowanie nanospektroskopii w podczerwieni z transformatą Fouriera (nanoFTIR). Zbadanie zmian strukturalnych na poziomie pojedynczych cząsteczek podczas procesu agregacji umożliwi wgląd w mechanizm tego procesu. Ponadto zbadany zostanie wpływ czynników takich jak mutacje białka tau, fosforylacja oraz obecność inhibitora agregacji na mechanizm powstawania agregatów. Mikroskopia sił atomowych (AFM) i nanospektroskopia umożliwią badanie dynamiki procesu agregacji, a także określenie wpływu agregatów białka tau będących na różnym etapie procesu agregacji (monomery, oligomery, pierścieniowe protofibryle, fibryle) na integralność błon biologicznych. Ponadto, proponuję zastosowanie symulacji komputerowych (dynamika molekularna) w celu badania podatności na agregację różnych wariantów białka tau (izofomy, mutanty, fosforylowane białko tau) na wczesnym stadium agregacji. Przeprowadzone symulacje pozwolą określić, jakie oddziaływania między cząsteczkami białka tau odpowiadają za proces agregacji.

Wyniki otrzymane w ramach realizacji niniejszego projektu pozwolą uzyskać niezbędną wiedzę dotyczącą nieprawidłowej agregacji białka tau oraz różnic w mechanizmie i dynamice agregacji wynikających z różnorodności strukturalnej poszczególnych wariantów. Rezultaty przeprowadzonych badań umożliwią określenie, które modyfikacje białka tau są najbardziej niebezpieczne. Ponadto znajomość dokładnego szlaku agregacji będzie niezwykle korzystna dla projektowania skutecznych strategii terapeutycznych zapobiegających zmianom neurodegeneracyjnym.