

Starzenie się społeczeństw państw rozwiniętych i rozwijających się staje się wyzwaniem w wielu obszarach życia ludzkiego. Jedynym z nich jest wzrost ilości osób zapadających na choroby wieku podeszłego, a na tym tle wyróżniają się obecnie niewyleczalne i trudno diagnozowalne choroby neurodegeneracyjne. Wczesnymi oznakami rozwoju chorób neurodegeneracyjnych (np. choroby Parkinsona i Alzheimer, płasawicy Huntingtona, czy rdzeniowego zaniku mięśni) są zwiastowane przez neuropatologiczne agregowanie lub splątywanie się białek alfa-synukleiny, amyloidu beta, białka tau oraz prionów. Stąd rośnie potrzeba na wykrywanie tych procesów na jak wcześniejszym etapie (przed wystąpieniem objawów klinicznych), w szczególności w grupie osób zagrożonych przez czynniki genetyczne.

Do detekcji nieprawidłowości w agregacji ludzkich białek najczęściej wykorzystuje się pomiar fluorescencji poprzedzony barwieniem badanej próbki barwnikami Tioflawina T czy rodamina 6G. Niestety metoda ta pozwala jedynie na zaobserwowanie już zaawansowanych produktów neuropatologicznego zwijania się białek, pozostając nieczułą na wykrycie pierwszych oligomerów.

Istotny krok we wczesnym diagnozowaniu chorób neurodegeneracyjnych poczyniono na Uniwersytecie Warszawskim, gdzie po naświetleniu Tioflawiny T światłem laserowym uzyskano wzmocnienie sygnału fluorescencji do postaci wzmocnionej emisji spontanicznej czy akcji laserowej. Spektroskopię laserową wykonuje się naświetlając cienkie biowarstwy, rezonatory kropelkowe czy roztwory barwnika z peptydami umieszczonego między dwoma lustrami (wnęka rezonansowa). Dzięki dużemu stężeniu barwnika możliwe jest uzyskanie inwersji obsadzeń wystarczającej na wykrywanie postaci oligomerycznych dla wybranych markerów chorób neurodegeneracyjnych. Niestety podejście to zawiera szereg wad. Zastosowanie dobrze scharakteryzowanej wnęki rezonansowej uniemożliwia zmianę barwnika na inny. Każda analiza próbki wymaga rozebrania wnęki i jej ponowne składowanie wymuszając zachowanie wysokiego poziomu równoległości luster i niewielkiej odległości od nich. Samo przyłączenie się rotora molekularnego Tioflawiny T do peptydu w cieczy nie pozwala na jego całkowite unieruchomienie, a tym samym uzyskane sygnały, pomimo swojej małej szerokości półkowej, są słabe. Wymusza to stosowanie gęstych rozpuszczalników celem dodatkowego spowolnienia ruchu barwnika.

W projekcie główny nacisk będzie położony na wykrywanie agregatów (oligomerów) o różnym rozmiarze i typowych dla wczesnej formy chorób Parkinsona (GA, GVATVA, GGAVVT i alfa-synukleina) i Alzheimer (difenylalanina, KLVFFA i amyloid beta) za pomocą spektroskopii laserowej z jednoczesnym wyeliminowaniem powyższych problemów oraz nadaniem nowej wartości do diagnostyki chorób neurodegeneracyjnych. Proponowaną alternatywą do cienkich biowarstw, rezonatorów kropelkowych oraz cieczy we wnęce rezonansowej jest zastosowanie nanoporowatych membran z anodowego tlenku glinu. Membrany będą sfunkcjonalizowane powierzchniowo celem efektywnego chwytania i unieruchamiania barwionych peptydów w porach. Brak udziału fazy ciekłej w membranie pozwoli na uzyskanie silnych sygnałów laserowych podczas naświetlania próbki, a jednocześnie funkcjonalizacja powierzchni uniemożliwi agregację barwnika-peptydu jak to dzieje się w biowarstwach. Średnica porów membrany będzie zmieniana cyklicznie, co pozwoli na tworzenie wewnętrznych centrów rozpraszania światła celem dodatkowego wzmocnienia sygnału laserowego. Ponadto membrany z anodowego tlenku glinu charakteryzują się szerokim zakresem przestrajania przerwy fotonicznej, co otworzy możliwość do łączenia peptydów z różnymi barwnikami (Tioflawina T i rodamina 6G), rozszerzając tym samym możliwości analityczne spektroskopii laserowej. Aplikacja (nakropienie), trwałość oraz przenoszenie materiału badawczego będą znacznie poprawione względem istniejących już rozwiązań.