

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-0399-10****Identifikácia post-translačných modifikácií neuronálneho proteínu tau zodpovedných za neurofibrilárnu degeneráciu v tauopátiách**Zodpovedný riešiteľ **Mag. Branislav Kováčech, PhD**Príjemca **Neuroimunologický ústav SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Neuroimunologický ústav SAV, Bratislava
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Zilka N, Kovacech B, Barath P, Kontsekova E, Novak M. The self-perpetuating tau truncation circle. *BIOCHEM SOC TRANS*, 2012, vol40, p. 681-686. (2011)
2. Paholikova K, Salingova B, Opattova A, Skrabana R, Majerova P, Zilka N, Kovacech B, Zilkova M, Barath P, Novak M. 2014. N-terminal Truncation of Microtubule Associated Protein Tau Dysregulates its Cellular Localization. *J Alzheimers Dis*. DOI 10.3233/JAD-140996
3. Majerova P, Zilkova M, Kazmerova Z, Kovac A, Paholikova K, Kovacech B, Zilka N, Novak M. 2014. Microglia display modest phagocytic capacity for extracellular tau oligomers. *J Neuroinflammation*. 11(1):161
4. FLACHBARTOVÁ Z, KOVACECH B. Mortalin - a multipotent chaperone regulating cellular

processes ranging from viral infection to neurodegeneration. Acta Virol., 2013, vol 57(1), p.3-15. (IF 0.759)

5. Vyžiadaná prednáška: 4. Kovacech B. Alzheimer's disease tau proteome – pathogenic and protective tau truncation in Alzheimer's disease. In the 8th International Winter Conference on Alzheimer's Disease. AD DRUG THERAPY –HOPE AND REALITY, NEW TARGETS IN SIGHT? Zuers, Austria, December 7-10, 2012

Uplatnenie výsledkov projektu

V tomto projekte bol poprvý krát detailne analyzovaný a katalogizovaný tau proteóm v mozgu pacientov Alzheimerovej choroby. Identifikované patologické proteíny a analýza ich toxických vlastností je štartovacím bodom na pochopenie mechanizmu ochorenia vývoj diagnostických metód pre tauopátie a tiež nových terapeutických postupov, keďže zatiaľ neexistuje spoľahlivá klinická diagnostická metóda a ani terapia pre tieto ochorenia.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Intracelulárne a extracelulárne neurofibrilárne kľbká tvorené patologickými formami neuronálneho proteínu tau sú typickými črtami mnohých neurodegeneračných ochorení. Etiológia ich vzniku a mechanizmus neurofibrilárnej degenerácie sú stále nie sú známe. Preto cieľom projektu bola proteomická analýza týchto patologických foriem tau vo vzorkách mozgu pacientov s Alzheimerovou chorobou a transgénneho modelu neurofibrilárnej patológie a ich čiastočná funkčná analýza in vitro. Vyvinuli sme biochemickú metódu, tandemovú imunoafinitnú purifikáciu, pomocou ktorej sme solubilizovali a pripravili patologické nerozpustné tau proteíny na proteomickú analýzu. Ukázali sme, že nerozpustné tau izolované z ľudského mozgu obsahuje veľké percento štiepených foriem a identifikovali N- a C-terminálne body štiepenia. Zistili sme, že ich vznik nie je náhodný, ale že prebieha na definovaných miestach zrejme špecifickými proteázami. V in vitro testoch sme ukázali, že tieto patologické formy vykazujú vysokú oligomerizačnú schopnosť z čoho vyplýva, že môžu byť induktormi oligomerizácie a agregácie tau in vivo. Funkčná analýza týchto fragmentov ukázala, že sú vysoko toxické pre neuronálne bunky. Detailná biochemická a mikroskopická analýza ukázala, že toxicita môže byť dôsledkom dysregulovanej lokalizácie týchto štiepených foriem tau do jadra, čo zrejme signalizuje abnormálne signály stresu. Na záver sme ukázali, že oligoméne formy tau proteínu môžu byť fagocytované mozgovými mikrogliami, ale že omnoho efektívnejšie sú odstránené periférnymi makrofágmi. Nakoniec, ako prví sme ukázali, že tau podlieha fyziologickému štiepeniu odlišnému od patologického. Záverom, naplnili sme ciele projektu proteomickou a funkčnou charakterizáciou patologických tau proteínov a doplnili sme ich o analýzy in vivo, ktoré neboli súčasťou pôvodného plánu.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

Intracellular and extracellular neurofibrillary tangles composed of pathological forms of tau are a typical feature of many neurodegenerative disorders. Etiology and mechanisms of neurofibrillary degeneration are not yet understood. Therefore, the aim of this project was proteomic characterization of the pathological forms of tau in the brain tissue of Alzheimer patients and in an animal model of neurofibrillary degeneration, and their functional analysis in vitro. We have developed a biochemical method, tandem immunoaffinity purification, using which we succeeded to solubilize the pathological tau proteins and prepare them for

proteomic analysis. We showed, that truncated tau proteins account for a large portion of pathological tau isolated from human AD brains. Identification of the N- and C-terminal cleavage points of these tau fragments showed that their generation is not accidental, but that they are generated by well-defined proteolytic cleavages. In vitro functional analysis of these fragments showed that they are highly prone to oligomerization, indicating that they might induce oligomerization and aggregation of tau in vivo and that they are toxic to neuronal cells. Detailed biochemical and microscopic analysis showed dysregulated cellular localization of the truncated tau proteins into the nucleus, which probably generates abnormal stress signals. Finally, we showed that oligomeric forms of truncated tau can be eliminated by brain microglia, but that peripheral macrophages are far more efficient. Importantly, we were the first to show that tau undergoes physiological cleavage (truncation) that generates fragments different from those in pathological forms.

To summarize, we fulfilled the aims of the project and completed the analysis by additional in vivo tests.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

Mgr. Branislav Kováčech, PhD

V Bratislave 30.09.2014

Štatutárny zástupca príjemcu

prof. MVDr. Michal Novák, DrSc. Dr.h.c.

V Bratislave 30.09.2014

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu