

Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-16-0531**Využitie animálnych modelov pre tauopátie na identifikáciu molekulárnych dráh
podieľajúcich sa na etiológii neurofibrilárnej degenerácie**Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Branislav Kováčech, PhD.**Príjemca **Neuroimunologický ústav SAV****Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**

Neuroimunologický ústav SAV

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

-

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

-

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

1. Sinsky, J., Majerova, P., Kovac, A., Kotlyar, M., Jurisica, I., and Hanes, J. (2020). Physiological Tau Interactome in Brain and Its Link to Tauopathies. J. Proteome Res. 19, p2429–2442. doi:10.1021/acs.jproteome.0c00137.
2. Majerova, P., Hanes, J., Olesova, D., Sinsky, J., Pilipcinec, E., and Kovac, A. (2020). Novel Blood–Brain Barrier Shuttle Peptides Discovered through the Phage Display Method. Molecules 25, p874. doi:10.3390/molecules25040874.
3. Hanes, J., Dobakova, E. and Majerova, P. (2020) Brain Drug Delivery: Overcoming the Blood-brain Barrier to Treat Tauopathies. Curr Pharm Des 26(13):1448-1465. doi:10.2174/1381612826666200316130128
4. Michalicova, A., Majerova, P. and Kovac, A. (2020). Tau Protein and Its Role in Blood–Brain Barrier Dysfunction. Frontiers Molecular Neuroscience 13 doi.org/10.3389/fnmol.2020.570045
5. Piestansky, J. Galba, J., Olesova, D., Kovacech, B. and Kovac, A. (2019) Determination of immunogenic proteins in biopharmaceuticals by UHPLC–MS amino acid analysis. BMC Chemistry 13:64. doi.org/10.1186/s13065-019-0581-z

Uplatnenie výsledkov projektu

Predložený projekt bol venovaný identifikácii nových interakčných partnerov patologického a fyziologického tau proteínu a identifikácii signálnych dráh asociovaných s patológiou Alzheimerovej choroby. Podarilo sa nám objaviť nových tau interakčných partnerov, ktoré môžu hrať úlohu buď v neuro-protektívnych signálnych dráhach a zúčastňujú sa na odstraňovaní patologických foriem tau proteínov alebo spôsobujú nefyziologickú aktiváciu normálnych bunkových signálnych dráh a tým spúšťajú neurodegeneračný proces. Tieto novoobjavené proteíny a ich signálne dráhy môžu byť využité na vývoj nových terapeutík pre liečbu alebo nových prístupov na diagnostiku Alzheimerovej choroby ako aj iných tauopatií. Výsledky tohto projektu môžu významne prispieť k vývoju úspešných liečebných postupov pre neurodegeneračné ochorenia ako aj pre iné mozgové choroby, a preto môžu byť veľmi prospešné pre celé ľudstvo.

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

Alzheimerova choroba (ACh) je najčastejšou príčinou demencie, je neliečiteľná a neexistuje ani spoľahlivá predklinická diagnóza pre skoré fázy Alzheimerovej choroby. V tomto projekte sme sa venovali identifikácii nových tau interakčných partnerov (TiP), ktorí môžu byť využití na vývoj liečiv alebo na diagnostiku ACh, ako aj iných neurodegeneračných ochorení. Úspešne sme zaviedli na našom pracovisku metódu in vivo crosslinkingu, pomocou ktorej sme in vivo crosslinkovali tau proteíny s ich interakčnými partnermi v potkanom modeli pre tauopatie ako aj v kontrolných zvieratách. Po imunopurifikácii tau komplexov a identifikácii pomocou hmotnostnej spektrometrie sme získali viac ako 300 proteínov, ktoré sme podrobili rozsiahlej bioinformatickej analýze. Pomocou tejto analýzy sme získali 83 nových, alebo pravdepodobných a 92 existujúcich tau interakčných partnerov. Zistili sme ďalej, že 39 identifikovaných proteínov bolo anotovaných pre signálne dráhy Alzheimerovej choroby, 10 pre signálne dráhy Parkinsonovej choroby a 22 pre obe ochorenia. Na ďalšiu validáciu sme vybrali štyroch novo identifikovaných (Atp1a1, Baiap2, Gpr3711 a Nptx1), a štyroch pravdepodobných tau interakčných partnerov (Ap2m1, Atp1a2, Psmd2 a Ran), ktoré sme podrobili validácii pomocou viacerých metód: 1) anti-tau koimunoprecipitácie z potkaních vzoriek mozgov a kontrolných zvierat, 2) anti-tau koimunoprecipitácie z ľudských vzoriek mozgu s tau patológiou a príslušných kontrol 3) pomocou fluorescenčnej kolokalizácie v bunkových modeloch. Z 8 vybraných proteínov sme potvrdili 5 proteínov interagujúcich s tau: Baiap2, Gpr3711, Nptx1, Psmd2 a Ran, pričom Psmd2 a Ran boli predtým predikované, ako tau-interakční partneri. Tieto výsledky sme nedávno publikovali vo prestížnom vedeckom časopise Journal of Proteome Research (Sinsky et al. J Proteome Res, 2020).

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

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia, is incurable and there is no reliable preclinical diagnosis for early stages of AD. In this project, we focused on the identification of new tau interaction partners (TiPs) that can be used for drug development or for the diagnosis of AD, as well as other neurodegenerative diseases. We have successfully introduced an in vivo crosslinking method at our laboratories, using which we have cross-linked tau proteins with their interaction partners in vivo in a rat model for tauopathies as well as in control animals. After immunopurification of tau complexes and identification by mass spectrometry, we obtained more than 300 proteins, which we subjected to extensive bioinformatic analysis. Using this analysis, we obtained 83 new or probable and 92 existing TiPs. We further found that 39 identified proteins were annotated for Alzheimer's disease signaling pathways, 10 for Parkinson's disease signaling pathways, and 22 for both diseases. For further validation, we selected four newly identified (Atp1a1, Baiap2, Gpr371 and Nptx1), and four probable tau interaction partners (Ap2m1, Atp1a2, Psmd2 and Ran), which we validated using several methods: 1) anti-tau co-immunoprecipitation from rats brain samples and control animals, 2) anti-tau coimmunoprecipitation from human brain samples with tau pathology and corresponding controls 3) by fluorescence colocalization in cell models. From 8 selected proteins we confirmed 5 proteins interacting with tau: Baiap2, Gpr371, Nptx1, Psmd2 and Ran, with Psmd2 and Ran having been previously predicted as tau-interaction partners. We recently published these results in the prestigious scientific journal Journal of Proteome Research (Sinsky et al. J Proteome Res, 2020).