

# Amiloido- $\beta$ fibrilių formavimasis ant biologinių paviršių

## Formation of Amyloid- $\beta$ Fibrils at Biological Surfaces

Simona Strazdaite<sup>1</sup>, Rima Budvytytė<sup>2</sup>, Edvinas Navakasas<sup>1</sup>, Ilja Ignatjev<sup>1</sup>, Gintaras Valinčius<sup>2</sup>, Gediminas Niaura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fizinių ir technologijos mokslų centras, Saulėtekio al. 3, LT-10257 Vilnius

<sup>2</sup>Vilniaus universitetas Gyvybės mokslų centras, Saulėtekio al. 7, 10223 Vilnius

[simona.strazdaite@ftmc.lt](mailto:simona.strazdaite@ftmc.lt)

Amiloido fibrilių formavimasis ląstelėse ir/arba tarpląsteliniame tinkle iš pirminių netvarkių baltymų yra siejamas su daugiau nei 30 skirtingomis klinikinėmis ligomis: Alzheimerio liga, Parkinsono liga, II tipo diabetas ir kitos [1]. Šiame darbe pagrindinį dėmesį skiriame amiloido- $\beta$  (A $\beta$ ) peptidui, kuris manoma yra Alzheimerio ligos pirmtakas. A $\beta$  peptidas agreguojasi sudarydamas įvairaus dydžio struktūras – tirpius, nedidelius iš kelių peptido monomerų sudarytus oligomeras, o vėliau ir didesnes netirpias polimerines fibriles. Šie agregatai kaupiasi smegenyse ir sukelia uždegiminius procesus, ląstelių žūtį ir audinių degradaciją. Vienas centrinių šių procesų reiškinį molekuliniam lygyje yra amiloidinių darinių sąveika su fosfolipidiniu dvisluoksniu. Būtent dėl šios priežasties ypatingai svarbu suprasti, kaip A $\beta$  peptidas ir skirtingos jo struktūros sąveikauja su ląstelės membrana. Ši sąveika manoma, veikia agregacijos procesą, todėl svarbu žinoti, kokia yra agregatų molekulinė struktūra ir kaip tie agregatai orientuojasi ant membranos paviršiaus. Tam, kad galėtume atsakyti į šiuos klausimus, reikalingas paviršiui jautrus spektroskopinis metodas.

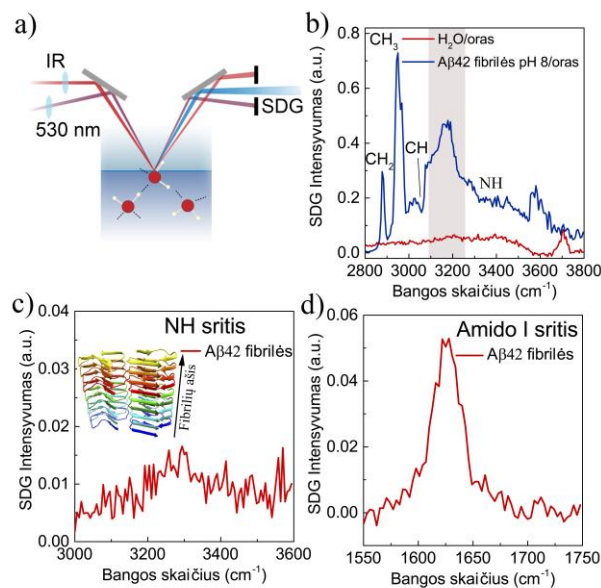
Netiesinė virpesinė suminio dažnio generacijos spektroskopija (SDG) yra nepakeičiamas metodas, pasižymintis ypatingu paviršiaus jautrumu, ir įgalinantis virpesinius molekulių paviršiaus tyrimus fazių riboje skystis/oras. Suminio dažnio generacija yra antros eilės netiesinis optinis procesas, kuris galimas tik sistemose, kurios neturi centrinės simetrijos. Suminiam dažniui sugeneruoti naudojami didelės galios ultratrumpi lazerio impulsai, tipiška vienas derinamo bangos ilgio infraraudonojoje srityje ir kitas regimosios šviesos impulsas (1 pav. a). Suminis dažnis generuojasi, kai abu impulsai persikloja laike ir erdvėje ant paviršiaus, ir infraraudonosios spinduliuotės dažnis sutampa su tiriamos molekulos virpesiniu dažniu. SDG spektroskopija taip pat gali būti naudojama gauti unikalią informaciją apie paviršinių molekulių chiralumą. Iš chiralinių SDG spektrų galima vienareikšmiškai nustatyti baltymo ar agregatų antrinę struktūrą [2].

1 pav. b) pateiktas A $\beta$  fibrilių 10  $\mu$ M koncentracijos pH 8 fazių riboje skystis/oras SDG spektras. A $\beta$ 42 fibrilių spektre ties 2880  $\text{cm}^{-1}$  ir 2950  $\text{cm}^{-1}$  matomos siauros linijos, priskiriamos baltymų aminorūgščių šoninėms alifatinėms grupėms: CH<sub>2</sub> ir CH<sub>3</sub> valentiniams virpesiams atitinkamai. Taip pat spektre matoma intensyvi juosta ties 3200  $\text{cm}^{-1}$ , kuri atitinka stipresnius vandenilinius ryšius sudarančią koordinuotą tetraedrinę vandens struktūrą. Ši juosta gali būti priskiriama vandens molekulėms solvatiniame apvalkale, kurios stipriai

sąveikauja su šoninėmis baltymo grupėmis arba vandens molekulėms lokalizuotoms vidinėje fibrilių ertmėje. Dėl interferencijos kai kurios juostos SDG spektre matomos ne kaip juostos, o kaip įdubimai. A $\beta$ 42 fibrilių spektre matomi keletas įdubimų, susijusių su baltymo virpesiais: aromatinis C-H virpesys ties  $\sim 3060 \text{ cm}^{-1}$  ir ne toks ryškus N-H valentinis virpesys ties  $\sim 3300 - 3350 \text{ cm}^{-1}$ .

1 pav. c) ir d) pavaizduoti chiraliniai spektrai N-H virpesių srityje ir amido srityje atitinkamai. N-H srityje nematyti virpesinės juostos, o amido srityje matoma juosta ties  $\sim 1620 \text{ cm}^{-1}$ . Iš tokio juostų pasiskirstymo [2] galima pasakyti, kad A $\beta$ 42 fibrilės sudarytos iš lygiagrečių  $\beta$  klosčių.

Tolesniuose tyrimuose aiškinsimės, kaip pasikeičia A $\beta$  baltymo ir jo agregatų struktūra sąveikaujant su modelinėmis fosfolipidinėmis membranomis, pavyzdžiui, DPPC (dioleoilfosfatidilcholininas) ir kitomis.



1 pav. a) Principinė SDG schema; b) SDG spektras A $\beta$  fibrilių 10  $\mu$ M koncentracijos pH 8 tirpalo fazių riboje su oru 2800 – 3800  $\text{cm}^{-1}$  srityje; c) chiralinis SDG spektras NH virpesių srityje ir d) amido srityje.

*Reikšminiai žodžiai: Amiloidas- $\beta$ , fibrilės, suminio dažnio generacija, paviršiaus spektroskopija*

### Literatūra

- [1] H. J. Dyson and P. E. Wright, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **6**, 197 – 208 (2005).
- [2] E. C. Yan, Z. Wang, and L. Fu, *J. Phys. Chem. B* **119**, 2769 – 2785 (2015).