بررسی نقش نانوذرات آهن مغناطیسی در القای تجمعات فیبریلی پروتئین تاو نوترکیب انسانی

محمد علی نصیری خلیلی[۲]، غلامحسین ریاضی[۱*]، شهین احمدیان[۱]، رضا خدارحمی[۳]، سیروس خدادادی[۲]، فرزاد مختاری، رزیتا دادخواه[۴]

[۱] تهران، دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک

[۲] تهران، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، پژوهشکده علوم و فناوری زیستی

[۳] کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده داروسازی، گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی

[۴] دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۲۴

چکیده

تجمع مگنتیت Fe_3O_4 در مغز و نقص در تنظیم انتقال و ذخیره آهن، با بسیاری از بیماریهای تحلیل سیستم عصبی مانند آلزایمر ارتباط دارد. همچنین ثابت شده است پاتولوژی آلزایمر از طریق مکانیسم های مختلف با ناجور تاخوردگی و ایجاد تجمعات فیبریلی پروتئین تاو همراه است. از این رو، در این مقاله میانکنش پروتئین تاو انسانی در حضور نانوذرات آهن مغناطیسی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج با استفاده از روشهای اسپکتروسکوپی فلورسانس و میکروسکوپ الکترونی نشان داد که نانوذرات آهن مغناطیسی قادر به القای تغییرات ساختاری در پروتئین تاو از پیچه نامنظم به ساختار بتا و در نتیجه ایجاد تجمعات فیبریلی پروتئین تاو می باشد. این نتایج، این حدس را تقویت می کند که احتمالاً کریستالهای آهن مغناطیسی مغز در القای فیبریلی شدن پروتئین تاو دخالت داشته باشند.

واژه های کلیدی: پروتئین تاو، بیماری آلزایمر، نانوذرات آهن مغناطیسی، تجمعات پروتئینی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۰۲۱۶۱۱۱۲۴۷۳، پست الکترونیکی: riazi@ibb.ut.ac.ir

مقدمه

به گزارش سازمان بهداشت جهانی، بیماریهای تحلیل سیستم عصبی با منشاء آمیلوئیدی یکی از بزرگترین مشکلات قرن ۲۱ خواهد بود (۹). تاکنون بیش از ۳۰ نوع بیماری در انسان شناسایی شده است که با تشکیل تجمعات پروتئینی موسوم به آمیلوئید همراه هستند (۴). از میان پروتئینهای اصلی که در بیماری آلزایمر اهمیت دارند، پروتئین تاو و آمیلوئید بتا بیش از همه، هدف مطالعات محققان قرار گرفته اند. پروتئین تاو که به خانواده پروتئینهای همراه میکروتوبولی تعلق دارد، در آکسون سلولهای عصبی به وفور وجود داشته و نقش اصلی آن، پایدارسازی پروتئینهای میکروتوبولی است (۲). این پروتئین دارای شش ایزوفرم اصلی است که در سلولهای عصبی یک فرد بالغ بیان می شوند. آنالیز توالی ساختار اولیه تاو نشان می دهد که این پروتئین دارای یک دمین متصل شونده به میکروتوبول می باشد که در انتهای کربوکسیلی قرار دارد و از موتیفهای تکرار شونده و کاملاً حفاظت شده ای تشکیل شده است (۱۲). در پاتولوژی بیماری آلزایمر، این ناحیه که غنی از اسیدهای آمینه بازی

است، در ایجاد تجمعات پروتئین تاو به صورت ساختارهای فیلامنتی به هم تنیده موسوم به PHF حائز اهمیت است. پس از این دمین، ناحیه غنی از پرولین قرار داشته و در ادامه، نیمه انتهای آمینی با خصلت اسیدی قرار دارد (۲، ۳، ۱۲ و ۱۳). اتصال پروتئین تاو به پروتئینهای میکروتوبولی با فرآیند فسفریلاسیون/ دفسفوریلاسیون توسط کینازها و فسفاتازهای اختصاصی کنترل می شود (۱۲و۱۳).

اعتقاد بر این است که رویدادهای پاتولوژیکی متعددی منجر به ناجور تاخوردگی (Misfolding) و ایجاد تجمعات پروتئینی در پروتئین تاو می شوند. موتاسیون ژن تاو (۷)، تغییرات پس ترجمه ای شامل هایپرفسفریلاسیون (۷و۱)، گلیکوزیلاسیون، گلیکاسیون، نیتراسیون تیروزین، پروتئولیز (۸ و۱۰) و تغییرات کوالان مانند پیوندهای دی سولفیدی بین مولکولی منجر به ناجور تاخوردگی تاو می شوند. همچنین گزارش شده است که سمیت وابسته به بتا آمیلوئید، استرس اکسیداتیو و التهاب می توانند منجر به انفصال تاو پروتئین از میکروتوبول ها شوند (۱۴). افزایش گونه های متصل نشده تاو پروتئین به میکروتوبول و نیز تجمع اشکال ناجور تاخورده، ساختارهایی را ایجاد می کند که اصطلاحاً پری تانگل نامیده می شوند. سپس این تغییرات ساختاری به سمت ایجاد تجمعاتی با سازمان یابی بیشتر به صورت ساختارهای بتا که اصطلاحا PHF نامیده می شوند، هدایت شده و سرانجام منتهی به تشکیل فیلامان های تجمعی یا تانگل های نوروفیبریلی می گردند (۶).

از سوی دیگر تجمع آهن و نقص در تنظیم انتقال و ذخیره آهن با بسیاری از بیماریهای تحلیل سیستم عصبی مانند بیماری آلزایمر، پارکینسون، هانتینگتون و مالتیپل اسکلروزیس ارتباط دارد. در بیماری ارثی تحلیل عصبی نوروفریتینوپاتی، به دلیل موتاسیون ژن کد کننده پلی پپتید سبک فریتین، آهن در بافت مغز تجمع می یابد. مطالعات X-raysینکروترون در نمونه های بافتی بیماران آلزایمر نشان می دهد که حضور غلظتهای بالای آهن در نواحی مختلف به علت انباشتگی مگنتیت Fe_3O_4 در مغز می باشد (۵). به عبارت دیگر، ارتباط مستقیم مگنتیت در پاتولوژی بیماری آلزایمر بسیار برجسته به نظر می رسد، به طوری که به دلیل قدرت مغناطیسی قوی، قادر است رادیکالهای آزاد تولید کند (۵ و ۱۵). با توجه به اینکه هر یک از مطالعات مربوط به نقش تجمعات آهن و نقص در تنظیم انتقال و ذخیره آهن و نیز مطالعات فیبریلی شدن پروتئین تاو در بیماری آلزایمر تاکنون بطور جداگانه مورد بررسی قرار گرفته اند، از این رو هدف این مقاله بررسی القای تجمعات فیبریلی پروتئین تاو در حضور نانوذرات آهن مغناطیسی می باشد.

مواد و روشها

ژن تاو توسط شرکت آلمانی Urofine MWG Operon سنتز شد. رزینهای کروماتوگرافی نیکل سفاروز و SP-سفاروز (از شرکت Amersham Biosciences)، نانوذرات آهن مغناطیسی (Micromod)، آنتی بادی منوکلونال Anti-His (Roche GmbH)، تیوفلاوین T (Sigma-Aldrich)، مارکر وزن مولکولی الکتروفورز پروتئین و مارکر رنگی وسترن بلات (از Fermentas) تهیه و خریداری شدند. مواد مورد نیاز برای تهیه محلولهای خالص سازی پروتئین از شرکت MERCK خریداری گردید.

بیان پروتئین تاو Tau412 (1N4R) : طراحی اولیه ژن رمز کننده تاو پروتئین بر مبنای ترادف گزارش شده در جستجوگر NCBI با شماره P ۱۰۶۳۶ انجام شد. ترادف DNA تاو درون پلاسمید pET-21a(+) و بین دو جایگاه برش مخصوص آنزیمهای محدودگر NdeI و XhoI، کلون گردید. جایگاه برش آنزیم محدودگر NdeI در انتهای $5^{/}$ و جایگاه برش آنزیم محدودگر XhoI در انتهای $3^{/}$ mRNA مذکور طراحی و اضافه گردید. برای این منظور سه نوکلئوتید cat به انتهای $5^{/}$ mRNA مذکور اضافه شد که با ترداف رمز آغازین اولیه (atg)، جایگاه برش اختصاصی

آنزیم محدودگر NdeI در انتهای $5^{/}$ ایجاد گردید (catatg). از سوی دیگر ترادف ctcgag که جایگاه برش آنزیم محدودگر XhoI است، بعد از توالی ختم (taa) به انتهای $3^{/}$ اضافه گردید. به منظور عملکرد بهتر آنزیمهای محدودگر، دو نوکلئوتید به ابتدا و انتهای ترادف اضافه گردید. همچنین نوکلئوتید t به انتهای کدون ختم taa اضافه شد تا خاتمه ترجمه به درستی صورت پذیرد. برای طراحی دنباله هیستیدین (His tag) و به منظور تسهیل در مراحل خالص سازی پروتئین، ترادف $(cac/t)_6$ قبل از taa خاتمه، در انتهای $3^{/}$ اضافه گردید. سفارش سنتز ترادف مذکور بر اساس طراحیهای صورت گرفته طبق کدون کاربری *E.coli* به شرکت Urofine MWG Operon آلمان ارایه شد. پس از سنتز، DNA در جایگاه برش آنزیمهای محدودگر NdeI و XhoI در وکتور pET-21a(+) کلون گردید. پس از تحویل پلاسمید حاوی ترادف سنتز شده تاو، پلاسمید درون باکتری *E.coli* BL21(DE3) ترانسفورم گردید. باکتریها در ۱ لیتر محیط کشت LB حاوی ۱۰۰ µg/ml آمپی سیلین در شرایط انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و با دور همزن ۲۰۰ rpm رشد داده شدند. پس از رسیدن جذب در ۶۰۰ نانومتر به ۰/۶، القاء توسط IPTG با غلظت نهایی ۱mM صورت گرفت. جمع آوری سلولها پس از گذشت ۴ ساعت کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انجام شد و سرانجام بیان پروتئین تاو با استفاده از الکتروفورز SDS-PAGE و وسترن بلات مورد بررسی قرار گرفت.

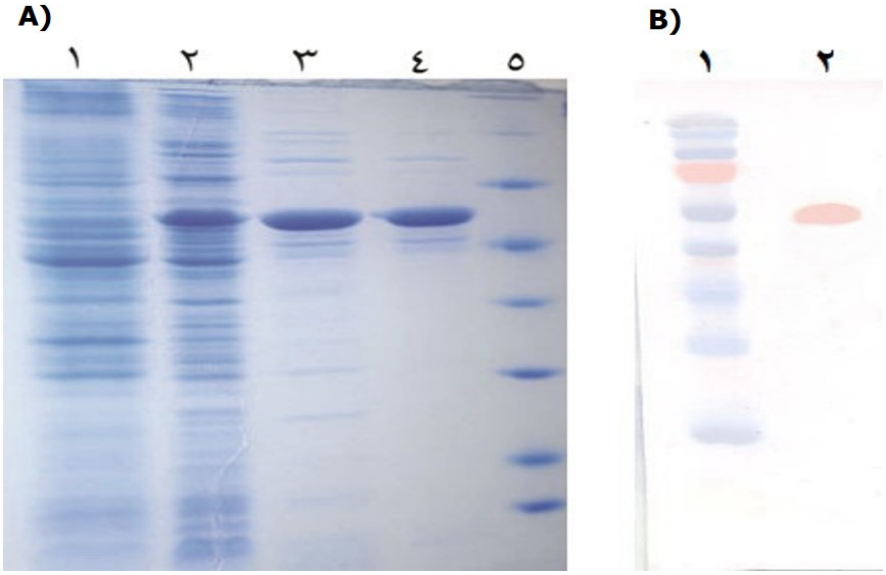
شکست سلولی: رسوب باکتری حاصل از سانتریفیوژ(min ۱۰ و ۸۰۰۰ rpm)، در بافر 20mM Tris-HCl, 50mM NaCl, 1mM EDTA, 5mM DTT, 0.1mM PMSF, pH 7.5 توسط همزن مکانیکی سوسپانسیونه شده و سپس با استفاده از دستگاه سونیکاتور (Soniprep 150, MSE, UK) در ۱۰ سیکل ۴۰ ثانیه‌ای تحت شرایط ۴ درجه سانتی گراد شکسته شد.

تخلیص پروتئین تاو : مقدار ۳۰ میلی‌لیتر رزین تعویض یونی SP- سفاروز درون ستون XK26/20 ریخته شد و سپس با ۹۰ میلی‌لیتر بافر تعادل 20mM Tris-HCl, 50mM NaCl, 1mM EDTA, 5mM DTT, 0.1mM PMSF, pH 7.5 شستشو داده شد. سوپرناتانت پروتئین تاو حاصل از مرحله شکست سلولی به ستون تعویض یونیSP – سفاروز با سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه تزریق و عبور داده شد. سپس ستون SP- سفاروز با ۱۰۰ میلی لیتر بافر 20mM Tris-HCl, 50mM NaCl, pH 7.5شستشو داده شد تا پروتئینهای متصل نشده به ستون خارج شوند. جداسازی فراکشنهای حاوی پروتئین تاو با استفاده از افزایش شیب خطی نمک (۱M- ۰/۰۵) ایجاد شده بین بافر شستشو و بافر جدا کننده حاوی ۱ مولار NaCl توسط گرادیان میکسر انجام شد. جذب فراکشنهای حاوی پروتئین تاو در طول موج ۲۸۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و فراکشنهای تخلیص شده اولیه در یک ظرف جمع آوری گردید. به منظور دستیابی به خلوص بیشتر پروتئین تاو، ستون کروماتوگرافی تمایلی نیکل- سفاروز به کار گرفته شد. مقدار ۵ میلی‌لیتر رزین نیکل- سفاروز با ۳۰ میلی لیتر بافر 20mM Tris, 0.2 M Nacl, 0.3% TritonX100, 10mM Imidazole, pH 8.0 به تعادل رسانده شد. پروتئین تاو خالص شده اولیه، از ستون نیکل- سفاروز با سرعت جریان ۰/۵ میلی لیتر در دقیقه عبور داده شد. ستون توسط ۳۰ میلی‌لیتر بافر 20mM Tris, 20mM Imidazole, pH 8.0 شستشو داده شد. این مرحله از شستشو تا هنگامی که قرائت جذب خروجی ستون در طول موج ۲۸۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر به صفر برسد، ادامه یافت. پس از مرحله شستشو، جداسازی پروتئین تاو با افزایش شیب غلظت ایمیدازول (M ۰/۶ – ۰/۰۲) با استفاده از بافر شستشو و بافر جداکننده (همان بافر حاوی ۶۰۰ میلی‌مولار ایمیدازول) توسط گرادیان میکسر انجام شد. پس از قرائت جذب فراکشنها در طول موج ۲۸۰ نانومتر، فراکشن های حاوی پروتئین تاو جمع‌آوری گردید و به منظور بررسی خلوص و بیان پروتئین، به ترتیب الکتروفورز SDS-PAGE و آنالیز وسترن بلات انجام شد.

فیبریلیزاسیون پروتئین تاو: پروتئین تاو در بافر فسفات (pH 7.4) حاوی ۱mM DTT تا غلظت نهایی ۸۰ میکرومولار تهیه گردید. سپس در حضور و غیاب نانوذرات آهن مغناطیسی اصلاح شده با گروه عاملی کربوکسیلات (Nanomag–COOH, 130 nm ; خریداری شده توسط شرکت Micromod) با نسبت مولی ۴ به ۱ در شرایط انکوباسیون روی شیکر با دور ۱۲۰۰rpm و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد. سوسپانسیون حاصل، سانتریفیوژ (دور g ۳۰۰۰، ۵ min) گردید و سوپرناتانت پروتئینی برای بررسی تجمعات فیبریلی مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش تیوفلاوینT : محلول آبی استوک ۱۰۰ میکرومولار تیوفلاوینT پس از آماده سازی، از فیلتر ۰/۲μm عبور داده شد. نمونه های مختلف پروتئین تاو در بافر فسفات (pH 7.4) تا غلظت نهایی ۵ میکرومولار رقیق گردید. سپس ۱۵ میکرولیتر تیوفلاوینT به ازای ۱۴۰ میکرولیتر نمونه پروتئین اضافه گردید و بلافاصله نشر فلورسانس (طول موج برانگیختگی ۴۴۰nm) با استفاده از اسپکتروفلوریمتر (مدل Cary Eclipse) اندازه گیری شد.

میکروسکوپ الکترونی:برای آنالیز توسط میکروسکوپ الکترونی TEM، هر یک از نمونه ها با گلوتارآلدهید ۲ درصد تیمار گردید و سپس روی Grid (300 mesh) اصلاح شده با فرموار/ کربن قرار گرفت. نمونه ها پس از رنگ آمیزی منفی با یورانیل استات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (مدل TEM; H-7600, Hitachi) بررسی شدند.



شکل۱- بررسی بیان و تخلیص پروتئین تاو با استفاده از الکتروفورز SDS-PAGE. (A۱) باکتری قبل از القاء، (A۲) باکتری ۴ ساعت بعد از القاء، (A۳) پروتئین تاو بعد از تخلیص با ستون تعویض یونی SP- سفاروز، (A۴) پروتئین تاو بعد از تخلیص نهایی با ستون نیکل سفاروز، (A۵) مارکر وزن مولکولی به ترتیب ۱۴/۴، ۱۸/۴، ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۶۶/۲ و ۱۱۶ کیلودالتون. (B۱) مارکر رنگی مخصوص وسترن بلات با اوزان مولکولی ۱۵، ۲۵، ۳۵، ۴۰، ۵۵، ۷۰، ۱۰۰، ۱۳۰، ۱۷۰ کیلودالتون و (B۲) تأیید بیان پروتئین تاو به روش وسترن بلات با استفاده از آنتی بادی منوکلونال $Anti\text{-}His_6$

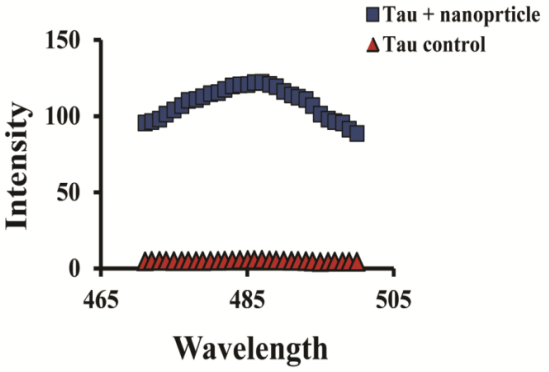
نتایج

بیان و تخلیص پروتئین تاو: نتایج الکتروفورز (شکل ۱، ستون A) نشان می دهد که بیان ایزوفرم 1N4R تاو انسانی بعد از القاء با IPTG طی ۴ ساعت انکوباسیون در محیط کشت، افزایش قابل ملاحظه ای نشان می دهد و به صورت فرم محلول در سیتوپلاسم بیان می شود. بنابراین پس از شکست سلولی، سوپرناتانت پروتئین برای خالص سازی

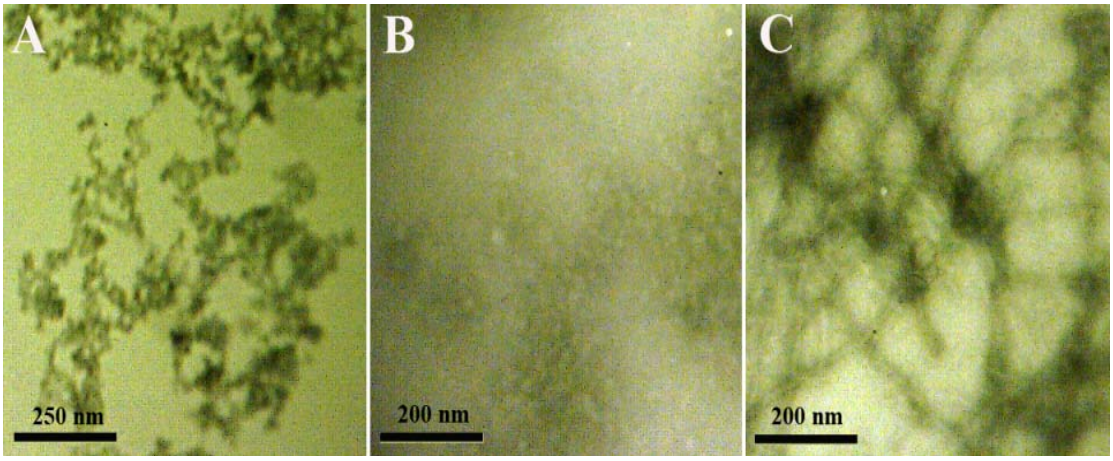
مورد استفاده قرار گرفت. در طراحی روش خالص سازی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین تاو (داشتن گروههای غنی از لیزین و pI بازی) و نیز به دلیل طراحی دنباله هیستیدینی حاوی ۶ گروه در انتهای کربوکسیل پروتئین، به ترتیب از ستونهای کروماتوگرافی تعویض یونی SP- سفاروز و نیکل سفاروز استفاده شده است. براساس نتایج الکتروفورز، پروتئین تاو حاصل از دو مرحله کروماتوگرافی یاد شده، از خلوص بالای۹۰ درصد برخوردار می باشد. همچنین در ستون B شکل ۱، نتایج وسترن بلات بیانگر تأیید بیان پروتئین تاو با استفاده از آنتی بادی منوکلونال $Anti\text{-}His_6$ می باشد.

بررسی تجمعات فیبریلی در حضور نانوذرات آهن مغناطیسی: نقش نانوذرات آهن مغناطیسی در القای تجمعات فیبریلی پروتئین تاو با استفاده از روشهای فلورسانس و میکروسکوپ الکترونی مورد بررسی قرار گرفت.

برای درک بهتر ارتباط تغییرات ساختاری پروتئین تاو و تمایل به تجمعات فیبریلی، روش فلورسانس با سنجش تیوفلاوینT مورد استفاده قرار گرفت. تیوفلاوینT به طور اختصاصی به ساختارهای بتا متصل می شود و کاربرد گسترده ای در شناسایی فیبریلهای آمیلوئیدی دارد. در این مطالعه، سنجش تیوفلاوینT در پروتئین تاو قبل از میانکنش با نانوذرات آهن مغناطیسی، هیچگونه نشر فلورسانسی را نشان نداد. لیکن پس از شرایط انکوباسیون تاو - نانوذرات در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت، نشر فلورسانس بطور چشمگیری افزایش یافت که نشان دهنده تشکیل تجمعات پروتئینی با ساختارهای غالب بتا می باشد (شکل ۲).



شکل۲- تشکیل تجمعات فیبریلی تاو با استفاده از فلورسانس تیوفلاوینT. (■) افزایش شدت فلورسانس پروتئین تاو در حضور نانوذرات آهن مغناطیسی، (▲) پروتئین تاو تحت شرایط انکوباسیون مشابه در غیاب نانوذرات.



شکل۳- میکروگرافهای الکترونی TEM. (A) نانوذرات آهن مغناطیسی، (B) پروتئین تاو تحت شرایط انکوباسیون مشابه در غیاب نانوذرات و (C) تجمعات فیبریلی پروتئین تاو در حضور نانوذرات آهن مغناطیسی.

همچنین به منظور نشان دادن مورفولوژی ساختارهای فیبریلی، از میکروسکوپ الکترونی TEM استفاده شد. نتایج حاصل در شکل ۳ نشان می دهد که میانکنش تاو با نانوذرات آهن مغناطیسی پس از شرایط انکوباسیون ۷۲ ساعت و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، تجمعات پروتئینی فیبریلی را ایجاد می نماید.

بحث

پروتئین تاو یکی از پروتئینهای همراه میکروتوبولی با ساختار ذاتاً واسرشته است که در بیماری آلزایمر اهمیت دارد. تاکنون فرضیه های مختلفی درباره القای تجمعات فیبریلی پروتئین تاو مطرح شده است. اعتقاد بسیاری از دانشمندان بر این است که ناجور تاخوردگی و ایجاد تجمعات فیبریلی پروتئین تاو به دلایلی نظیر موتاسیون ژن تاو (۷)، تغییرات پس ترجمه ای شامل هایپرفسفریلاسیون (۱ و ۷)، گلیکوزیلاسیون، گلیکاسیون، نیتراسیون تیروزین، پروتئولیز (۸ و ۱۰) و تغییرات کوالان مانند پیوندهای دی سولفیدی بین مولکولی رخ می دهد. همچنین گزارش شده است که سمیت وابسته به بتا آمیلوئید، استرس اکسیداتیو و التهاب در انفصال غیرطبیعی پروتئین تاو از میکروتوبول ها نقش دارند (۱۴). تحقیقات زیادی برای شبیه سازی و بررسی مکانیسم این تجمعات با استفاده از مولکولهای القاگر نظیر هپارین، هپاران سولفات، اسیدهای چرب غیراشباع، RNA و کینونها در شرایط In Vitro، انجام شده است (۱۱). با این حال، القاگرهای فیزیولوژیک پلیمریزاسیون تاو در بیماری آلزایمر تاکنون ناشناخته باقی مانده است. پیشتر گزارش شده بود که تجمع مگنتیت Fe_3O_4در مغز و نقص در تنظیم انتقال و ذخیره آهن با بسیاری از بیماریهای تحلیل سیستم عصبی مانند آلزایمر ارتباط دارد (۵ و ۱۵). از این رو در این پژوهش یک مکانیسم احتمالی بین حضور نانوذرات آهن مغناطیسی و تشکیل تجمعات فیبریلی پروتئین تاو پیشنهاد داده شد. با توجه به نتایج اسپکتروسکوپی فلورسانس و میکروسکوپ الکترونی مبنی بر القای تغییرات ساختاری در پروتئین تاو به سمت ساختار بتا و ایجاد تجمعات فیبریلی، احتمالاً انباشتگی مگنتیت Fe_3O_4 در مغز از طریق پروتئین تاو با بیماری آلزایمر ارتباط خواهد داشت. بنابراین به نظر می رسد کریستالهای آهن مغناطیسی مغز در القای فیبریلی شدن پروتئین تاو دخالت داشته باشند. به طور کلی مکانیسمی که طی آن پروتئین تاو تجمعات فیبریلی تشکیل می دهند، تاکنون ناشناخته مانده است. پروتئین تاو در انتهای کربوکسیل خود دارای نواحی تکراری متصل شونده به میکروتوبول می باشد. در واقع این ناحیه دارای چهار دمین تکراری غنی از اسیدهای آمینه بازی است. به نظر می رسد نانوذرات آهن مغناطیسی اصلاح شده با گروههای عاملی کربوکسیلات، با میانکنش الکتروستاتیکی به این نواحی تکراری کاتیونی پروتئین تاو متصل می شوند. سپس براساس مکانیسم وابسته به هسته زایی، مرحله دیمریزاسیون پروتئین تاو رخ می دهد. سهم دمینهای تکراری کاتیونی در پروتئین تاو در ایجاد هسته تجمعات فیبریلی بسیار برجسته است. با افزایش سطوح آنیونی موجود در نانوذرات یاد شده، تغییرات ساختاری پروتئین تاو از حالت واسرشته به سمت ساختارهای بتا هدایت می شود که با تشکیل حدواسطهای الیگومری، سرانجام تجمعات فیبریلی شکل می گیرد. هنوز معلوم نیست که آیا در شرایط پاتولوژی بیماری آلزایمر و یا در مدلهای حیوانی، کریستالهای آهن مغناطیسی قادر به القای تجمعات فیبریلی در پروتئین تاو هستند یا خیر؟ اما این مقاله با بررسی میانکنش نانوذرات آهن مغناطیسی و پروتئین تاو در In Vitro، دریچه ای برای پاسخ به سؤال فوق است. به عبارت دیگر جای امیدواری است که در آینده ای نزدیک درک روشن تری از ارتباط حضور کریستالهای آهن مغناطیسی و بیماری آلزایمر از طریق مکانیسمهای دخیل در تجمعات فیبریلی پروتئین تاو به دست آید.

منابع

1. Alonso Adel, C., Mederlyova, A., Novak, M., Grundke-Iqbal, I. & Iqbal, K. (2004) Promotion of hyperphosphorylation by frontotemporal dementia tau mutations. J. Biol. Chem. 279, 34873–34881.
2. Ballatore, C., Lee, V. M. and Traojanowsky, J. Q. (2007) Tau-mediated neurodegenerative in Alzheimer disease and related disorders. Nat Rev Neurosci 8, 663-672.
3. Binder, L. I., Frankfurter, A. and Rebhun, L. I. (1985) The distribution of tau in the mammalian central nervous system. J Cell Biol 101, 1371-1378.
4. Chiti, F and Dobson, C.M. (2006) Protein misfolding, functional amyloid and human diseases. Annu Rev Biochem 75, 333-366.
5. Collingwood, J.F. and Dobson, J. (2006) Mapping and characterization of iron compounds in Alzheimer's tissue. J Alz Dis 10 , 215–222.
6. Frid, P., Anisimov, S. V. & Popovic, N. (2007) Congo red and protein aggregation in neurodegenerative diseases. Brain Res. Rev. 53, 135–160.
7. Goedert, M. & Jakes, R. (2005) Mutations causing neurodegenerative tauopathies. Biochim. Biophys. Acta 1739, 240–250.
8. Gong, C. X., Liu, F., Grundke-Iqbal, I. & Iqbal, K. (2005) Post-translational modifications of tau protein in Alzheimer's disease. J. Neural Transm. 112, 813–838.
9. Irvine, G. B., EL-Agnaf, O. M. and Walsh, D. M. (2008) Protein aggregation in the brain- The molecular basis for Alzheimer and Parkinson diseases. Mol Med 14(7-8), 451-464.
10. Johnson, G. (2006) Tau phosphorylation and proteolysis: insights and perspectives. J. Alzheimers Dis. 9, 243–250.
11. Kuret, J. et al. (2005) Evaluating triggers and enhancers of tau fibrillization. Microsc. Res. Tech. 67, 141–155.
12. Lee, G., Neve, R. L., Kosik, K. S., et al (1989) The microtubule binding domain of tau protein. Neuron 2, 1615-1624.
13. Mazanetz, M. P., Fisher, P. M., et al (2007) Untangling tau hyperphosphorylation in drug design for neurodegenerative diseases. Nat Rev Drug Discov 6, 464-479.
14. Moreira, P. I. et al. (2005) Oxidative stress and neurodegeneration. Ann. NY Acad. Sci. 1043, 545–552.
15. Pankhurst, Q., Hautot D., Khan, N. and Dobson, J. (2008) Increased Levels of Magnetic Iron Compounds in Alzheimer's Disease. J Alz Dis 13 , 49–52.

The role of magnetic iron nanoparticles in recombinant human Tau protein fibrillization

Nasiri Khalili M.A.[2], Riazi Gh.H.[1], Ahmadian Sh.[1], Khodarahmi R.[3], Khodadadi S.[2], Mokhtari F.[1] and Dadkhah R.[4]

[1] **Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, Tehran, I.R. of Iran**

[2] **Biosciences and Biotechnology Dept., Malek Ashtar University of Technology, Tehran, I.R. of Iran**

[3] **Pharmacognosy and Biotechnology Dept., Faculty of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, I.R. of Iran**

[4] **Young Researchers Club, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan , I.R. of Iran**

Abstract

Accumulations of biogenic magnetite (Fe_3O_4) in the brain and dysregulation of iron transport and storage has been found to be associated with many neurodegenerative conditions, such as Alzheimer disease. Several studies have shown that pathogenesis of AD is also related to protein misfolding and aggregation of tau protein in the brain. In the present study, we investigated the interaction between recombinant human tau and magnetic iron nanoparticles by using ThT Fluorescence and TEM microscopy. Our results showed that magnetic iron nanoparticles induced tau conformational changes from random-coil to β-sheet and consequently resulted in the formation of tau fibrils. In conclusion, our results proposes a probable mechanism for the correlation between aggregation of tau protein and biogenic magnetite crystals in AD.

Key words: Magnetite nanoparticles; Aggregation; Tau protein; Alzheimer's disease