

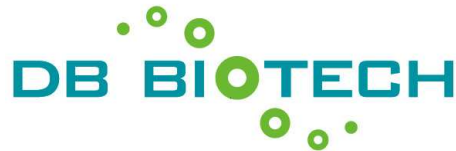
## STIMULY PRE VÝSKUM A VÝVOJ

**Názov projektu:** Aktivácia Akt kinázy metabotropickým glutamátovým receptorom mGluR5 pri Huntingtonovej chorobe

**Druh projektu:** Základný výskum

**Číslo projektu:** 3620/2010-11

**Logo riešiteľa:**



**Riešiteľ:** DB Biotech, spol. s r.o.  
Popradská 80, 040 01 Košice  
e-mail: dbbiotech@dbbiotech.com

**Spoluriešiteľ:** Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach  
Šrobárová 2, 041 80 Košice

**Doba riešenia:** 07/2010 – 05/2013

**Vytvorenie/udržanie pracovných miest vo výskume a vývoji:**

2 nové pracovné miesta  
Štruktúra novovytvorených pracovných miest:  
- 1 vedecký pracovník  
- 1 laborant  
2 udržané pracovné miesta  
Štruktúra udržaných pracovných miest:  
- 2 laboranti

**Etapy riešenia projektu:**

- 1. Etapa:** Štúdie prevencie huntingtonom indukovanej bunkovej smrti
- 2. Etapa:** Štúdium post-translačných modifikácií/fosforylácií huntingtinu (Htt) prostredníctvom alosterickej modulácie mGluR5, a súvisiacej Akt aktivácie
- 3. Etapa:** Testovanie selektovaného alosterického modulátora mGluR5 na bunkách in vivo/in situ pri jeho chronickej aplikácii

Zodpovedný riešiteľ: Prof. Dr. Ing. Tomáš Dobránsky, Ph. D.

### Popis predmetu riešenia a súčasného stavu:

Huntingtonova choroba (HD, Huntington's disease) je autozomálna, dominantná neurodegeneratívna porucha charakterizovaná symptómami mimovoľného náhleho pohybu častí ľudského tela, stratou kognitívnych funkcií, psychických disturbancií, vedúcich neodvratne k úmrtiu. HD mutovaný proteín nazývaný Huntingtin (Htt) ktorý je počas patológie choroby pôvodcom jeho trankovanej formy s polyglutamínovou expanziou jeho N-terminálneho konca, je považovaný za pôvodcu progresívnej smrti neurónov v častiach neokortexu, striatum u pacientov s touto chorobou. Hlavný excitačný neurotransmitter v mozgu - glutamát, zohráva dôležitú úlohu pri patogenéze excitotoxickej straty pri HD. Existujú dva typy glutamátových receptorov: ionotropický a metabotropický. Opakovane bola preukázaná paralelná aktivácia glutamátových receptorov a excitotoxickej straty neurónov pri HD. Úloha glutamátových receptorov (mGluRs) v tomto procese nie je úplne jasná. HD transgénne myši s aplikáciou mGluR5 antagonistom zvyšujú ich prežitie. Nabúrané kalciové signálne dráhy a pozorovaná apoptóza u mediálnych spinálnych neurónov v myšacom HD modeli boli popísané pri aktivácii mGluR1/5 a NMDA receptorov obsahujúcich NR2B podjednotku. Naopak, iné štúdie dokazujú že mGluR môže mať aj ochrannú úlohu. Napríklad pri inkubácii neurónov kortexu s DHPG (3,5 - dihydroxyphenylglycine) - agonista prvej skupiny mGluR receptorov, bola NMDA excitotoxicita redukovaná. Z toho vyplýva, že glutamátová signalizácia cez obidva - ionotrópne aj metabotrópne receptory - môže byť realizovaná prostredníctvom Htt pri HD, aj keď nie je zatiaľ jasné či mGluR receptory zohrávajú ochrannú alebo neurotoxickú úlohu pre stratu neurónov. Dôkladné porozumenie úlohy mGluR receptorov v procese neurotoxicity prinesie viac svetla do patológie HD, s možnosťou potenciálneho vývoja účinných farmakoterapeutík.

Naše nedávne výsledky demonštrujú, že mGluR5 zo skupiny mGluR receptorov exprimovaných hojne v časti striatum, má alternované základné signálne dráhy v myšacom modeli HD (Hdh<sup>Q111/Q111</sup>), pri porovnaní s kontrolným Hdh<sup>Q20/Q20</sup>. Produkcia inozitol fosfátu (InsP) riadená mGluR1/5 je takmer eliminovaná z Hdh<sup>Q111/Q111</sup> myšacích striatálnych rezov, a je riadená proteín kinázou C (PKC). Napriek značne zníženej produkcii InsP, uvoľňovanie intracelulárneho kalcia riadené DHPG je vyššie v Hdh<sup>Q111/Q111</sup>, ako v Hdh<sup>Q20/Q20</sup> neurónoch.

Medzi alteráciami v signalizácii mGluR pozorovanými pri HD ktoré môžu ochraňovať pred smrťou buniek, je aktivácia Akt osobitne dôležitá. Aktivácia Akt mGluR zahŕňa fosfatidylinositol-3 kinázu (PI3K) a phosphoinositide-dependentnú kinázu (PDK1). PI3K aktivátor PIKE sprostredkováva interakciu mGluR s PI3K cez Homer proteíny. mGluR aktivácia vedie k formácii funkčného komplexu mGluR-Homer-PIKE, umožňujúcu aktiváciu PI3 kinázy pomocou PIKE, čo má za následok redukciu apoptózy. To znamená, že Akt aktivácia prostredníctvom mGluR je závislá na InsP/PLC (phospholipase C) signálnej dráhe.

Naviac, Akt zohráva kľúčovú ochrannú úlohu v procese regulácie bunkovej smrti pri ďalších neurodegeneratívnych ochoreniach. Pri HD, Akt riadi fosforyláciu mutovaného Htt proteínu, čo zapríčiňuje redukciu jeho agregácie a následnú redukciu bunkovej smrti, čo poskytuje ochrannú signalizáciu pri HD. Bolo dokázané, že myristoylovaná forma Akt, ktorá je konštitutívne aktivovanou formou kinázy, má in vivo

anti-apoptotický potenciál v dopaminergných neurónoch a v substantia nigra, v myšacom modeli Parkinsonovej choroby. Akt má tiež dôležitú ochrannú úlohu pri Alzheimerovej chorobe, kde aktivácia Akt vedie k inhibícii glykogén syntáza kinázy-3 (GSK-3), pričom GSK-3 fosforyluje tau a týmto aktivuje formáciu párových špirálových vlákien a následnú smrť neurónov. Zaujímavosťou je, že amyloid- $\beta$  aktivuje GSK-3 tým že inhibuje PI3K/Akt signálnu dráhu. Naopak, aktivácia Akt môže zvrátiť toxický efekt amyloid- $\beta$  peptidov. Z toho vyplýva že Akt zohráva kľúčovú úlohu pri patológii Alzheimerovej choroby modulovaním signálnych dráh beta amyloidných peptidov aj tau, stávajúc sa takto potenciálne terapeuticky zaujímavou molekulou. Fosforylácia proteínov zohráva veľmi dôležitú úlohu v regulácii neuronálnych aktivít pri vzniku neurologických ochorení. Napríklad, aktivita a subcelulárna distribúcia cholin acetyltransferázy (ChAT) je regulovaná PKC izoformami (klasickými, novými aj atypickými) presne riadenou hierarchiou, pri fosforylácii rôznych zbytkov serínu a treonínu. Cholinergný neuronálny deficit bol intenzívne študovaný, zahŕňajúci alterácie v koncentráciách intracelulárneho kalcia, aktivity proteín kináz a vezikulárneho acetylcholínového transportera (VACHT), a tiež alteráciu aktivity ChAT v časti striatum a v kortexe. Detailná charakterizácia signálnych dráh mGluR zahŕňajúca reguláciu Htt aktivity fosforyláciou prostredníctvom Akt kinázy a produkcia odpovedajúcich vysoko špecifických klonálnych protilátok, sú základnými navrhovanými bodmi predkladaného grantu základného výskumu. Výskum Akt regulácie kontrolovanej bunkovej smrti prostredníctvom mGluR pri HD je dôležitý pre vývoj nových stratégií prípadnej liečby nielen pre túto patológiu, ale aj pre ostatné neurodegeneratívne ochorenia.

### **Hlavný cieľ projektu:**

Hlavným cieľom projektu základného výskumu je popis mechanizmu zvýšenia aktivity Akt kinázy pomocou alosterickej modulácie mGluRm s následkom zníženia agregácie huntingtinu (Htt) a indukcie smrti neurónov, čím sa spomalí progresia huntingtonovej choroby (HD).

### **Popis čiastkových cieľov projektu:**

#### **1. Štúdie prevencie huntingtinom indukovanej bunkovej smrti neurónov alosterickými modulátormi mGluR**

Alosterické modulátory mGluR5 prechádzajú cez krvno-mozgovú bariéru a môžu byť používané pre in vivo štúdie, s obrovským potenciálom liečby HD. Naše predbežné výsledky demonštrujú že Akt kináza môže byť aktivovaná bazálnou aktivitou mGluR5, keďže MPEP inhibuje Akt v Hdh<sup>Q111/Q111</sup> neurónoch. Rôzne alosterické modulátory mGluR5 môžu rôzne aktivovať nezávislé mGluR5 signálne dráhy rozličnou intenzitou. Ideálny alosterický modulátor mGluR5 zabraňujúci bunkovej smrti musí znížiť uvoľnenie intracelulárneho kalcia pri maximálnej aktivácii Akt, pričom vysoká koncentrácia kalcia zvyšuje, a aktivovaná Akt kináza znižuje smrť neuronálnych buniek.

*Hypotéza:* Znížená koncentrácia kalcia a zvýšená fosforylácia/aktivita Akt kinázy zvýšia fosforyláciu Htt a tým znížia bunkovú smrť neurónov.

## 2. Štúdium post-translačných modifikácií/fosforylácií Htt prostredníctvom alosterickej modulácie mGluR5 a súvisiacej Akt aktivácie

Z možných post-translačných modifikácií Htt boli popísane: fosforylácia, sumoylácia a palmitoylácia. Tieto post-translačné modifikácie sú dôležité pre reguláciu fyziologickej funkcie Htt s priamym vplyvom na progresiu HD. Aktivácia mGluR5 môže viesť k fosforylácii a sumoylácii intracelulárnych proteínov. Je teda veľmi pravdepodobné že aktivácia mGluR5 reguluje post-translačné modifikácie, hlavne fosforyláciu Htt, a tým alteruje progresiu HD.

*Hypotéza:* mGluR5 aktivácia indukuje špecifické post-translačné modifikácie/fosforylácie Htt, ktoré znižujú jeho toxicitu a týmto spomaľujú progresiu HD mechanizmom, ktorý zahŕňa Akt kinázu. Aktivita tejto kinázy môže byť tiež regulovaná fosforyláciou.

## 3. Testovanie selektovaného alosterického modulátora mGluR5 na bunkách in vivo/in-situ pri jeho chronickej aplikácii

Po charakterizácii mGluR5 pozitívneho alosterického modulátora, bude vyselektovaný modulátor pre štúdiu in vivo. Tieto štúdie budú zaujímavé kvôli poznaniu účinnosti týchto látok pre prípadnú liečbu HD.

*Hypotéza:* Chronická inkubácia *Hdh*<sup>Q20/Q20</sup> a *Hdh*<sup>Q111/Q111</sup> myši s pozitívnym alosterickým stimulátorom mGluR5 zníži formovanie Htt agregátov, neuronálnu bunkovú smrť, a progresiu HD.

**Plánovaná výška oprávnených nákladov na projekt: 1.997.546,- €**

**Vlastné prostriedky: 0,- €**

**Požadovaná dotácia: 1.997.546,- € (100 %)**

**Podiel vlastných prostriedkov: 0 %**

**Plánovaný sumárny rozpočet projektu v €:**

	Rok 2010	Rok 2011	Rok 2012	Rok 2013	Celkom
Bežné náklady	313.924,-	544.779,-	525.510,-	268.298,-	1.652.511,-
Kapitálové výdavky	345.035,-	0,-	0,-	0,-	345.035,-
Celkové náklady	658.959,-	544.779,-	525.510,-	268.298,-	1.997.546,-
Vlastné prostriedky	0,-	0,-	0,-	0,-	0,-
Požadovaná dotácia	658.959,-	544.779,-	525.510,-	268.298,-	1.997.546,-

### Skutočné čerpanie v €:

	Rok 2010	Rok 2011	Rok 2012	Rok 2013	Celkom
Bežné náklady	313.860,67	540.455,50	509.395,85	0,-	1.363.712,02
Kapitálové výdavky	344.977,53	0,-	0,-	0,-	344.977,53
Celkové náklady	658.838,20	540.455,50	509.395,85	0,-	1.708.689,55
Vlastné prostriedky	0,-	0,-	0,-	0,-	0,-
Požadovaná dotácia	658.838,20	540.455,50	509.395,85	0,-	1.708.689,55

### Rozdelenie financií medzi hlavného riešiteľa a spoluriešiteľa v €:

	Rok 2010	Rok 2011	Rok 2012	Rok 2013	Celkom
Riešiteľ	653.109,-	534.779,-	515.510,-	264.118,-	1.967.516,-
Spoluriešiteľ	5.850,-	10.000,-	10.000,-	4.180,-	30.030,-
Spolu	658.959,-	544.779,-	525.510,-	268.298,-	1.997.546,-

### Etapy riešenia projektu s termín začatia a ukončenia

Etapa riešenia projektu	Začiatok	Koniec
1. Štúdie prevencie huntingtonom indukovanej bunkovej smrti neurónov alosterickými modulátormi mGluR	07/2010	05/2011
2. Štúdium post-translačných modifikácií/fosforylácií Htt prostredníctvom alosterickej modulácie mGluR5 a súvisiacej Akt aktívácie	06/2011	05/2012
3. Testovanie selektovaného alosterického modulátora mGluR5 na bunkách in vivo/in situ pri jeho chronickej aplikácii	06/2012	05/2013

### Plánované výstupy riešenia

Plánované výstupy riešenia	Rok 2010	Rok 2011	Rok 2012	Rok 2013	Rok 2014
Publikácie	0	1	2	2	1
Pracovné miesta	2	0	0	0	0
Patenty	0	0	0	0	1
Prezentácie	0	1	2	2	0
Vzdelávanie študentov	0	0	2	2	0
Partnerstvo s akademickým sektorom	1	0	0	0	0

Výsledky práce budú publikované v zahraničných vedeckých periodických. Keďže ide o originálny projekt ktorého štúdie nadväzujú na predchádzajúce práce týkajúce sa molekulárnych mechanizmov bunkovej smrti neurónov, prínosom bude objasnenie základných signálnych dráh pri patológii huntingtonovej choroby.

Dôležitou súčasťou je prezentácia čiastkových výsledkov na medzinárodných vedeckých fórach - seminároch, konferenciách a sympóziách.

Projekt otvára možnosť aktívnej spolupráce laboratória Lekárskej Fakulty UPJŠ v Košiciach so súkromnou firmou, kde sa zakladá systém aktívneho prenosu informácií základného výskumu do prípadnej klinickej praxe.

### **Predpokladané využitie výsledkov**

Popis molekulárnych mechanizmov bunkovej smrti neurónov a proteínových kináz zohrávajúcich významnú úlohu nielen pri neurodegenerácii, ale aj pri riadení bunkovej proliferácie, hlavne fyziologickej aktivity proteínov riadiacich transkripciu génov, bude veľkým prínosom pre základné štúdiá regulácie neurodegenerácie na molekulárnej úrovni. Nové špecifické protilátky charakterizujúce originálne fosforylačné miesta cieľových študovaných proteínov (huntingtin, Akt kináza) môžu nájsť aplikáciu pri objasňovaní funkcie týchto fosforylácií aj pri iných patológiách.

### **Hlavné realizované výstupy za rok 2010**

V sledovanom období (rok 2010) sa rozšírilo pracovisko výskumu a vývoja o pracovisko pre projekt základného výskumu. V tejto súvislosti došlo k vytvoreniu nových pracovných miest v plánovanej štruktúre a zároveň aj k ich obsadeniu na požadovanej profesijnej a vzdelanostnej úrovne. Došlo tiež k vytvoreniu partnerstva so spoluriešiteľom. V súčasnej dobe prebieha proces verejného obstarávania na dodávku strojov a prístrojov, materiálu a potrebných služieb.

Formuje sa laboratórium proteínovej hmotnostnej spektrometrie, kde bol v plnej miere aplikovaný „know-how“ hmotnostnej spektrometrie pre identifikáciu proteínov, identifikáciu ich post-translačných zmien a sekvenovanie proteínov/peptidov pomocou jej metodík zo zahraničia, z pracoviska s obrovskou skúsenosťou a kompletnou metodológiou v tejto oblasti. Zodpovedný vedecký pracovník pracoviska sa zúčastní v druhej polovici novembra celosvetovej konferencie Neurovied v San Diegu, USA, kde je niekoľko stovák prezentácií o aplikácii proteínovej hmotnostnej spektrometrie pri identifikácii proteínov, identifikácie a popisu ich špecifických fosforylácií vo vzťahu k rôznym patológiám, pri objavovaní a popise ich signálnych dráh a nových proteínových markerov vo vzťahu k špecifickým signálnym dráham.

Pracovisko molekulárnej biológie rozšíri svoj záber pri produkcii potrebných rekombinantných proteínov, produkcii mutovaných foriem proteínov (delécia fosforylovateľných aminokyselinových zbytkov, a pod). Novozriadené laboratórium bunkovej biológie umožní bežnú kultiváciu cicavčích buniek používaných pre expresiu proteínov s reguláciou ich endogénnych/fyziologických, aj indukovaných fosforylácií.

### **Hlavné realizované výstupy za rok 2011**

Realizácia projektu a s tým spojené plnenie stanovených cieľov v sledovanom období (rok 2011) prebiehalo v súlade so schváleným harmonogramom projektu.

Rozšírila sa spolupráca so spoluriešiteľskou organizáciou – Lekárska fakulta UPJŠ v Košiciach, a ich ďalšími partnermi a spolupracovníkmi, ktorí pomáhajú získavať vzácny biologický materiál pacientov s huntingtonovou chorobou.

Riešenie plánovaných úloh posunulo úroveň aplikácie proteínovej hmotnostnej spektrometrie na novú úroveň, pričom výsledky analýz proteínov o minimálnej expresii,

a zachytenie ich post-translačných modifikácií nesmierneho klinického významu, poukazuje na vysokú odbornosť uvedeného pracovníka.

Nové monošpecifické protilátky vyvinuté a produkované DB Biotech pre identifikáciu Akt kinázy a huntingtinu, majú uplatnenie nielen pri riešení úloh daného projektu, ale aj v širokej vedeckej komunite a klinickej praxi, zaoberajúcimi sa touto problematikou. Protilátky DB 126 a DB 127 boli uvedené na svetový trh ako originálne produkty, vďaka veľkému záujmu vedeckej komunity. Veľký záujem je tiež o originálne protilátky voči Htt proteínu, kde sa pracuje na finalizácii aplikačných protokolov a s týmto súvisiacich experimentálnych modeloch.

Výsledky výskumu boli prezentované na „Annual Meeting of Society for Neurosciences“, vo Washington DC v novembri 2011, ktorého sa zúčastnili dvaja riešitelia projektu z DB Biotech, a spolupracovník DB Biotech v oblasti transgénnych modelov pokusných myší - Prof. Fabiola Ribeiro z Brazílie. Tieto výsledky dávajú základ najmenej dvom originálnym vedeckým publikáciám, ktoré by mali byť publikované v priebehu nasledujúceho roka. Zodpovedný riešiteľ projektu v spolupráci s Prof. Ribeiro napísal kapitolu **Energy Metabolism in Huntington's Disease** v knihe: „Huntington's Disease - Core Concepts and Current Advances“ - (ISBN 978-953-307-953-0), ktorá je momentálne v tlači. V knihe je zvýraznená nutnosť mapovania špecifického proteómu huntingtonovej choroby, aj prínos výsledkov v oblasti proteomiky a špecifických protilátok voči kľúčovým proteínom regulujúcim patológiu choroby.

Prezentácia formou poster: „ESTUDOS PRELIMINARES VISANDO A CARACTERIZAÇÃO DE MODULADORES ALOSTÉRICOS DO MGLUR5 COMO FERRAMENTA TERAPÊUTICA PARA EVITAR A MORTE NEURONAL QUE OCORRE NA DOENÇA DE HUNTINGTON“, autorov: *Silva FR, Lima AF, Dória JG, Kravcukova P, Reis HJ, Dobransky T, Ribeiro FM*, získala prvé miesto v kvalite práce a jej prezentácie na celobrazílskej úrovni prezentácie výsledkov základného výskumu v oblasti neurovied v Brazílii. Uvedením DB Biotech a základných informácií ohľadne financovania zodpovedajúceho vedeckého projektu Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR, Agentúrou MŠVVaŠ SR pre štrukturálne fondy EÚ, ide o prezentáciu dobrého mena slovenskej vedy a výskumu v zahraničí. Spolupráca s krajinami akou je Brazília má na poli základného výskumu a translácie výsledkov základného výskumu do praxe obrovský potenciál.

## Hlavné realizované výstupy za rok 2012

V priebehu posledného roka riešenia výskumných úloh projektu sme preukázali, že pozitívne alosterické modulátory metabotropného glutamátového receptora 5 (mGluR5) aktivujú Akt kinázy v primárnych kultúrach striatárnych neurónov modelových BACHD myší. Navyiac, experimenty týkajúce sa bunkovej smrti neurónov poukázali na prevenciu glutamátom indukovanej bunkovej smrti primárnych striatárnych neurónov, v primárnych embryonálnych kultúrach BACHD myší. In vivo behaviorálne štúdie preukázali, že alosterické modulátory mGluR5 ameliorujú pamäťový deficit v BACHD myšiach. Výsledkom proteomickej analýzy cieľových regulačných proteínov pri patológii študovanej signálnej dráhy - Akt kinázy a Htt - je panel nových originálnych protilátok, ktoré sú veľmi významným prostriedkom pre molekulárno/proteomickú analýzu priebehu huntingtonovej choroby.

Alosterické modulátory mGluR5 indukujú fosforyláciu Akt kináz prinajmenšom na rezíduu Ser-463 (Akt1), Ser-474 (Akt2), Ser-472 (Akt3), čo bolo preukázané monošpecifickou protilátkou identifikujúcou túto fosforyláciu. Striatálne neuróny kontrolných myši (wt) boli porovnávané s BACHD myšami. Pomocou proteínovej hmotnostnej spektrometrie boli identifikované ďalšie fosforylácie indukované alosterickými modulátormi, ktoré môžu zohrávať pre objasnenie patológie huntingtonovej choroby veľmi významnú úlohu. Glutamátom indukovaná bunková smrť neurónov v primárnych striatárnych embryonálnych kultúrach je inhibovaná z panelu testovaných alosterických modulátorov najvýraznejšie VU 1545. Najdôležitejším momentom v tejto oblasti štúdií je čo najpresnejšia identifikácia kľúčových modifikácií regulačných proteínov riadenia bunkovej smrti a patologickej modifikácie cieľových proteínov pri huntingtonovej chorobe.

Behaviorálne štúdie založené na zapamätanie si známeho objektu kontrolnými myšami v porovnaní s BACHD modelovými myšami huntingtonovej choroby. Ameliorácia pamäti po podaní najvhodnejšieho alosterického modulátora mGluR5 pre tieto štúdie - CDPBB (Cyano-DiPhenyl-Pyrazol-Benzamide) je nesmierne dôležitým medzníkom prezentovaných štúdií. Aktivácia mGluR5 receptorov je jedným zo základných trendov pri výskume účinnej liečby celej skupiny neurodegeneratívnych ochorení u človeka.

Identifikácia nových fosforylácií huntingtinu v extraktoch striatálnych kultúr neurónov, indukovaných pri alosterickej modulácii mGluR5 BACHD myšiek pomocou proteínovej hmotnostnej spektrometrie, otvára celú sériu veľmi zaujímavých štúdií. Fosforylácia ktorej indukcia spomaľuje agregáciu huntingtinu (Ser-398), voči ktorej sme v predchádzajúcom období dizajnovali a pripravili monošpecifickú protilátku, bude naďalej študovaná vo vzťahu k ďalším identifikovaným fosforylačným miestam: pSer-93, pSer-690, pThr-1948 a pThr-2360 (UniProt: P42859, myšací huntingtin). Prominentné identifikované miesta - pSer-93 a -690 v štruktúrálnej proximite pSer-398, môžu regulovať výrazne túto ochrannú fosforyláciu, a to ako v návaznosti na hierarchiu pri fosforylovaní jednotlivých rezíduí proteínu, tak aj v súvislosti s hierarchiou pri fosforylovaní tej istej aminokyseliny rôznymi proteínovými kinázami.

Identifikácia zvýšenej expresie Akt2 a Akt3 izoforiem Akt kinázy v striatálnych kultúrach BACHD transgénnych myšiek exponovaných VU 1545, predpokladá účasť týchto izoforiem na prípadnej ochrannej fosforylácii huntingtinu. Navyiac, Ser-478 môže zohrávať významnú regulačnú úlohu pre fosforyláciu Ser-476, nakoľko zo všetkých troch izoforiem Akt kinázy len tento zbytok je fosforylovateľný izoformami proteín kinázy C (PKCs), na základe konsekálnej sekvencie SIR, kde arginín (R) predisponuje túto fosforyláciu.

Čiastkové výsledky plnenia úloh vedeckého výskumu odpovedajúceho projektu boli prezentované na svetovom fóre pre neurovedy v New Orleans a sú popísané v originálnej vedeckej publikácii, ktorá je v tlači v British Journal of Pharmacology (*manuscript 2012-BJP-1035-RP*). Navyiac, o už pripravené monošpecifické protilátky identifikujúce Akt1 kinázu pre aplikáciu pomocou prietokovej cytometrie a o protilátky detekujúce huntingtin, jeho preudo-agregáty aj fosforylovanú formu mouse pSer-396-Htt, je obrovský záujem širokej vedeckej obce. Tento moment dokazuje silný translačný potenciál výstupov výsledkov základného výskumu, ktorému sa DB Biotech bude intenzívne venovať po ukončení projektu.